

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ
ИНСТИТУТ «МЕЖДУНАРОДНЫЙ ТОМОГРАФИЧЕСКИЙ ЦЕНТР»
СИБИРСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК

На правах рукописи

ЖУКОВ Иван Владимирович

**ДИНАМИКА СПИНОВ ЯДЕР В ДИАМАГНИТНЫХ ГЕТЕРОЯДЕРНЫХ СПИНОВЫХ
СИСТЕМАХ, В БИРАДИКАЛЬНЫХ ИНТЕРМЕДИАТАХ И ПРОДУКТАХ
ФОТОИНДУЦИРОВАННЫХ РЕАКЦИЙ В ПЕРЕКЛЮЧАЕМЫХ МАГНИТНЫХ ПОЛЯХ**

Специальность 1.3.17 - химическая физика, горение и взрыв,
физика экстремальных состояний вещества

Диссертация на соискание учёной степени
кандидата физико-математических наук

Научный руководитель:
доктор физико-математических наук
Юрковская Александра Вадимовна

Новосибирск-2021

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
ГЛАВА 1: ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	13
1.1 ЭФФЕКТЫ СИЛЬНОЙ СВЯЗИ ЯДЕРНЫХ СПИНОВ В СЛАБОМ, УЛЬТРАСЛАБОМ, И НУЛЕВОМ МАГНИТНОМ ПОЛЕ	13
1.1.1 Условия перехода в режим сильной связи, антипересечение уровней энергии, адиабатическое и неадиабатическое переключение магнитного поля	13
1.1.2 Долгоживущие состояния ядерных спинов	16
1.1.3 ЯМР в нулевом поле	20
1.2 ХИМИЧЕСКАЯ ПОЛЯРИЗАЦИЯ ЯДЕР В РЕАКЦИЯХ С УЧАСТИЕМ КОРОТКОЖИВУЩИХ БИРАДИКАЛОВ. МЕХАНИЗМЫ ФОРМИРОВАНИЯ ХИМИЧЕСКОЙ ПОЛЯРИЗАЦИИ ЯДЕР В ПРОДУКТАХ ФОТОИНДУЦИРОВАННЫХ ХИМИЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ	23
1.2.1 Эффект ХПЯ в реакциях с участием свободных радикалов. Механизм радикальных пар	25
1.2.2 Эффект ХПЯ в реакциях с участием бирадикалов. J-механизм	27
1.2.3 Моделирование эффектов ХПЯ в бирадикалах	30
ГЛАВА 2: МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	34
2.1 УСТАНОВКА ЯМР С БЫСТРЫМ ПЕРЕКЛЮЧЕНИЕМ ПОЛЯ В УЛЬТРА-ШИРОКОМ ДИАПАЗОНЕ МАГНИТНЫХ ПОЛЕЙ	34
2.1.1 Адиабатическое и неадиабатическое переключение поля в ZULF режим ...	36
2.1.2 Метод измерения полевой зависимости эффекта ХПЯ	37
2.2 ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ СОЕДИНЕНИЯ И ПРИГОТОВЛЕНИЕ ОБРАЗЦОВ	39
ГЛАВА 3: РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ	44
3.1 ДОЛГОЖИВУЩИЕ СОСТОЯНИЯ В ГЕТЕРОЯДЕРНЫХ СПИНОВЫХ СИСТЕМАХ ...	44
3.2 КВАНТОВЫЕ БИЕНИЯ В ГЕТЕРОЯДЕРНЫХ СПИНОВЫХ СИСТЕМАХ	53
3.3 КОРРЕЛЯЦИЯ ХИМИЧЕСКИХ СДВИГОВ ЯДЕР ЗА СЧЁТ ИЗОТРОПНОГО СМЕШИВАНИЯ В УЛЬТРАСЛАБОМ МАГНИТНОМ ПОЛЕ	61
3.4 ХПЯ ПРОТОНОВ ФЛАВИНАДЕНИНДИНУКЛЕОТИДА	73
3.5 ХПЯ В ДИАДАХ ДОНОР-ЛИНКЕР-АКЦЕПТОР	82
3.5.1 ХПЯ с временным разрешением диад D-X-A	82
3.5.2 Полевые зависимости ХПЯ протонов диад D-X-A	85
3.5.3 Полевые зависимости ХПЯ углерода-13 диад D-X-A	91

3.5.4 Моделирование динамики спинов ядер протонов и углерода-13 в бирадикалах с фиксированным обменным взаимодействием.....	98
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	104
ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ВЫВОДЫ	106
СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ СОКРАЩЕНИЙ	107
СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ	108
ПРИЛОЖЕНИЕ 1.....	119

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы

Ядерный магнитный резонанс (ЯМР) в настоящее время широко используется в качестве метода исследования структуры веществ и материалов, а также их взаимодействий в химии, физике, биологии [1-5]. Особенно мощное развитие ЯМР-спектроскопия получила после широкого распространения импульсных ЯМР спектрометров и разработки многомерных методов ЯМР спектроскопии, а также магнитно-резонансной томографии – МРТ [6-8].

Явление ЯМР заключается в резонансном поглощении радиочастотного (РЧ) излучения ядерными спиновыми системами [9]. В современной ЯМР спектроскопии с Фурье преобразованием исследуется отклик спиновой системы на короткие радиочастотные (РЧ) импульсы. Интенсивности сигналов ЯМР зависят от разности населённостей ядерных спиновых уровней системы. Основным недостатком метода ЯМР является низкая чувствительность. Так, в магнитном поле 9.4 Тл для ЯМР спектрометра с резонансной частотой 400 МГц для наиболее распространённых магнитных ядер с максимальным гиромагнитным отношением – протонов, разность населённостей уровней энергии при комнатной температуре составляет примерно 3×10^{-5} , именно эта часть спинов отвечает за формирование сигнала ЯМР в термодинамическом равновесии. Для других ядер чувствительность ЯМР намного хуже. Практически с момента открытия явления ЯМР ведутся исследования, направленные на повышение чувствительности спектроскопии ЯМР, например, за счет увеличения разности населённостей ядерных спиновых уровней по сравнению с термическим равновесием. В настоящее время широко известны такие способы создания неравновесной ядерной спиновой поляризации (также называемой гиперполяризацией) как оптическая накачка [10] (англ. SEOP – spin exchange optical pumping), динамическая поляризация ядер, ДПЯ [11, 12] (англ. DNP – dynamic nuclear polarization), индуцированная параводородом поляризация ядер, ИППЯ [13-15] (англ. PHIP –

parahydrogen induced polarization, SABRE – signal amplification by reversible exchange), химическая поляризация ядер (ХПЯ) [16, 17] и другие.

В течение долгого времени одним из направлений развития метода ЯМР было увеличение напряжённости магнитного поля, позволяющее улучшить спектральное разрешение за счёт линейной зависимости разности резонансных частот от магнитного поля. Однако, увеличение напряжённости магнитного поля приводит и к нежелательным эффектам, например, уменьшению времени поперечной релаксации для больших молекул. Кроме того, диктуемый сильным Зеемановым взаимодействием вид гамильтониана приводит к подавлению либо невозможности наблюдения ряда ядерных спиновых взаимодействий [18]. Перспективным подходом к изучению свойств молекулярных систем в нулевом и ультраслабом поле (англ. Zero- to Ultralow Field NMR, ZULF NMR) [19, 20] является метод ЯМР с быстрым переключением магнитного поля, в котором сочетаются спиновая динамика в произвольном магнитном поле в широком диапазоне с детектированием спектров высокого разрешения в сильном магнитном поле.

Именно высокое спектральное разрешение открывает перспективную возможность применить мощный арсенал импульсной ЯМР спектроскопии к исследованию динамики систем гетероспинов в произвольном магнитном поле на уровне индивидуальных ядер, которая принципиально отсутствует в методе ЯМР широких линий с быстрым переключением поля, создаваемого электромагнитом. А исследование полевой зависимости ядерной спиновой гиперполяризации, создаваемой в фотохимических реакциях в ходе селективной по электронному спину рекомбинации бирадикалов, позволяет повысить чувствительность ЯМР на несколько порядков и получить информацию об электронном обменном и сверхтонком взаимодействии электронов с ядрами в короткоживущих интермедиатах радикальных реакций. Эти два подхода были применены в диссертационной работе.

Разработанность темы

Достоинствами ЯМР в нулевом и ультраслабом поле являются:

1) высокое спектральное разрешение, связанное с очень низкой абсолютной неоднородностью внешнего магнитного поля [20];

- 2) возможность наблюдать подавляемые в сильном поле ядерные спиновые взаимодействия;
- 3) возможность изучения релаксационных свойств в ультраслабом поле;
- 4) отсутствие искажений и артефактов, вызванных границами между материалами с различной магнитной восприимчивостью [21];

Однако, ЯМР в нулевом и ультраслабом поле в настоящее время характеризуется относительно низкой чувствительностью по сравнению с современными методами ЯМР в сильном поле. Кроме того, необходимым условием получения сигнала ЯМР в нулевом и ультраслабом поле является наличие скалярно-связанных ядер с различными гиромагнитными отношениями. Последнее требование вкупе с низкой чувствительностью ограничивает область применимости ЯМР в нулевом и ультраслабом поле для образцов в конденсированной фазе практически исключительно изотопно-обогащёнными соединениями при высокой концентрации.

Химически индуцируемая поляризация ядер – ХПЯ (англ. CIDNP – chemically induced dynamic nuclear polarization) [16, 17] – один из методов создания гиперполяризации, основанный на зависимости скорости рекомбинации короткоживущих пар радикалов от состояния ядерных спинов, взаимодействующих с неспаренными электронами радикалов. Метод ХПЯ отличается сравнительной простотой реализации – известны способы создания спин-коррелированных радикальных пар в результате термоллиза материнской молекулы, [16, 22], при импульсном фотолизе или радиоллизе [23, 24].

Методом ХПЯ можно усиливать сигналы в ЯМР спектре в 10^3 - 10^4 раз. Наряду с другими косвенными методами, применяемыми для регистрации короткоживущих радикалов, такими, как MARY (magnetic field affected reaction yield), EPR (electron paramagnetic resonance), OD EPR (optically detected EPR), метод ХПЯ позволяет получать уникальную информацию о механизме реакций и структуре короткоживущих радикалов, зачастую недоступную по техническим причинам для MARY и OD EPR: об электрон-ядерном сверхтонком взаимодействии с атомным разрешением, об обменном взаимодействии электронов, о влиянии магнитного поля на протекание реакции с участием парамагнитных частиц, и т.п. Ранее метод ХПЯ широко использовался для изучения радикальных

интермедиатов биологически активных молекул, в частности, аминокислот [25-27], азотистых оснований нуклеиновых кислот [28-31], пептидов [32-35] и олигонуклеотидов [36-39].

Цели и задачи работы

Целями работы являются:

- 1) развитие методов спектроскопии ЯМР высокого разрешения с переключением внешнего магнитного поля для изучения спиновой динамики в слабых и ультраслабых магнитных полях;
- 2) изучение спиновой динамики короткоживущих бирадикалов, являющихся парамагнитными интермедиатами фотоиндуцированных реакций внутримолекулярного переноса электрона, методом ЯМР с переключением магнитного поля и химической поляризации ядер.

В ходе выполнения работы решались следующие задачи:

- 1) исследование свойств долгоживущих гетероядерных состояний, а также нуль-квантовых когерентностей в ультраслабом магнитном поле, в спиновых системах $^{13}\text{C}-^1\text{H}$, $^{13}\text{C}-^1\text{H}_2$, и $^{13}\text{C}-^1\text{H}_3$.
- 2) разработка новых методов многомерной корреляционной спектроскопии ЯМР, комбинирующих свойства ЯМР в сильном и в нулевом поле.
- 3) изучение зависимости ХПЯ от магнитного поля с целью получения информации об электронном обменном взаимодействии и спиновой динамике бирадикала флавинадениндинуклеотида.
- 4) определение влияния химической природы заместителя X в диадах донор (ТАА)-линкер (*para*-замещённое бензольное кольцо)-акцептор (NDI) с жёсткой пространственной структурой на процесс рекомбинации состояния с разделением заряда.

Научная новизна работы

Обнаружены долгоживущие состояния в гетероядерных спиновых системах $^{13}\text{C}-^1\text{H}$ и $^{13}\text{C}-^1\text{H}_3$, разработан способ описания спектрального проявления долгоживущих состояний в этих спиновых системах. Разработан косвенный способ записи спектров ЯМР нулевого поля и способ полной корреляционной

спектроскопии ЯМР со смешиванием спинов ядер в ультраслабом магнитном поле (ZULF-TOCSY), на который был получен патент РФ.

Определена форма распределения по расстояниям между неспаренными электронами в короткоживущем бирадикале, возникающем при фотовозбуждении молекулы флавинадениндинуклеотида; опровергнута гипотеза о сосуществовании двух различающихся конформаций этого бирадикала. Установлен положительный знак обменного взаимодействия в состоянии с разделением заряда для ряда структурно жестких диад донор-линкер-акцептор; определено распределение спиновой плотности неспаренных электронов по атомам водорода и углерода в этих бирадикалах.

Теоретическая и практическая значимость работы

Первая часть работы посвящена развитию методов спектроскопии ЯМР высокого разрешения с переключением внешнего магнитного поля. Обнаружено формирование долгоживущих состояний спиновых системах $^{13}\text{C}-^1\text{H}$, и $^{13}\text{C}-^1\text{H}_3$, разработан способ численного моделирования проявления этих состояний в ЯМР спектре в сильном поле. Разработан косвенный способ получения спектров ЯМР в нулевом поле, выявляющий корреляцию между сигналами в спектре ЯМР высокого разрешения и спектрами ЯМР нулевого поля, а также разработан и запатентован новый способ получения двумерных корреляционных спектров ЯМР для полной корреляции сигналов ЯМР всех магнитных ядер с использованием изотропного смешивания спинов в ультраслабом поле – ZULF TOCSY.

Во второй части работы метод ХПЯ применяется для исследования двух типов короткоживущих бирадикалов, образующихся при внутримолекулярном фотоиндуцированном переносе электрона. К первому типу относятся бирадикалы биологически активного соединения, являющегося кофакторам криптохромов – светочувствительных белков – флавинадениндинуклеотида (ФАД), а ко второму типу – бирадикалы структурно жестких диад донор-линкер-акцептор (D-X-A) – перспективных материалов для создания органических фотоэлектрических преобразователей. При выполнении работы были развиты методы проведения экспериментов ХПЯ, а также способы обработки экспериментальных данных и

численного моделирования эффекта ХПЯ в короткоживущих бирадикалах с целью получения количественной информации о магниторезонансных параметрах.

Методология и методы исследования

Исследование проводилось методом ЯМР высокого разрешения с быстрым переключением поля в ультра-широком диапазоне магнитных полей от 5 нанотесла до 9.4 Тл на уникальной установке, разработанной сотрудниками МТЦ СО РАН на базе коммерческого 400 МГц ЯМР спектрометра Bruker Avance III HD. Разрабатывались программы на языке программного пакета Matlab для проведения численного моделирования динамики спиновых систем.

Положения, выносимые на защиту

- Установлен механизм формирования долгоживущих спиновых состояний в гетероядерных спиновых системах $^{13}\text{C}-^1\text{H}$ и $^{13}\text{C}-^1\text{H}_3$ при адиабатическом переходе в ультраслабое магнитное поле.
- Разработан косвенный способ измерения спектров ЯМР в нулевом поле в гетероядерных спиновых системах, а также способ корреляции этих спектров с сигналами в стандартном ЯМР спектре высокого разрешения.
- Разработан и запатентован способ установления корреляции сигналов ЯМР всех взаимодействующих магнитных ядер за счёт изотропного смешивания в ультраслабом поле.
- Получена оценка для распределения по расстоянию между неспаренными электронами в короткоживущем бирадикале, возникающем при фотовозбуждении молекулы флавинадениндинулеотида в водном растворе.
- Установлен положительный знак и величина электронного обменного взаимодействия в фотоиндуцированном бирадикале для четырех структурно жестких диад донор-линкер-акцептор; получены детальные данные о сверхтонком взаимодействии для протонов и ядер ^{13}C в этих короткоживущих бирадикалах.

Степень достоверности результатов проведённых исследований

Достоверность представленных в диссертационной работе результатов и заключений обусловлена использованием современных экспериментальных подходов и методов численного моделирования, многократной воспроизводимостью полученных результатов и их согласием с современными теоретическими представлениями об описании динамики системы многих спинов. Значимость обсуждений и выводов в работе была признана мировым научным сообществом, что подтверждается публикациями в рецензируемых международных журналах.

Личный вклад автора

Автор принимал активное участие в планировании и проведении исследований, обсуждении результатов и подготовке публикаций по теме диссертационной работы. Кроме того, автор разрабатывал и выполнял модернизацию экспериментальной установки, необходимую для проведения на ней нестандартных экспериментов: измерения полевой зависимости ХПЯ, и неадиабатического переключения поля внутри магнитного экрана. Все результаты, представленные в диссертации, получены лично автором, если иное не оговорено явным образом.

Апробация результатов

Результаты и материалы диссертации были представлены на различных международных и российских конференциях: EUROMAR 2018; Spin Physics, Spin Chemistry and Spin Technology 2018; V School for young scientists: Magnetic Resonance and Magnetic Phenomena in Chemical and Biological Physics 2018; Spin Chemistry Meeting 2019; EUROISMAR2019; Intercontinental magnetic resonance seminar series, 12 June 2020; EUROMAR2020 on-line; EUROMAR2021 on-line.

Публикации

По материалам диссертационной работы опубликовано 7 научных статей в рецензируемых научных изданиях и получен патент Российской Федерации на изобретение:

1. **Zhukov, I. V.** Field-cycling NMR experiments in ultra-wide magnetic field range: relaxation and coherent polarization transfer / Zhukov, I. V. [et al.] // Physical Chemistry Chemical Physics. – 2018. – Т. 20, № 18. – С. 12396-12405.
2. **Zhukov, I. V.** Assessment of heteronuclear long-lived states at ultralow magnetic fields / Zhukov, I. V., Kiryutin, A. S., Yurkovskaya, A. V., Ivanov, K. L. // Physical Chemistry Chemical Physics. – 2019. – Т. 21, № 33. – С. 18188-18194.
3. **Zhukov, I.** Positive electronic exchange interaction and predominance of minor triplet channel in CIDNP formation in short lived charge separated states of D-X-A dyads / Zhukov, I. [et al.] // The Journal of Chemical Physics. – 2020. – Т. 152, № 1. – С. 014203.
4. **Zhukov, I. V.** Exchange interaction in short-lived flavine adenine dinucleotide biradical in aqueous solution revisited by CIDNP (chemically induced dynamic nuclear polarization) and nuclear magnetic relaxation dispersion / Zhukov, I. V. [et al.] // Magnetic Resonance. – 2021. – Т. 2, № 1. – С. 139-148.
5. **Zhukov, I. V.** Correlation of high-field and zero- to ultralow-field NMR properties using 2D spectroscopy / Zhukov, I. V. [et al.] // The Journal of Chemical Physics. – 2021. – Т. 154, № 14. – С. 144201.
6. **Zhukov, I. V.** Total Correlation Spectroscopy across All NMR-Active Nuclei by Mixing at Zero Field / Zhukov, I. V. [et al.] // Journal of Physical Chemistry Letters. – 2020. – Т. 11, № 17. – С. 7291-7296.
7. **Kiryutin, A. S.** Sequential assignment of NMR spectra of peptides at natural isotopic abundance with zero-and ultra-low-field total correlation spectroscopy (ZULF-TOCSY) / Kiryutin, A. S. [et al.] // Physical Chemistry Chemical Physics. – 2021. – Т. 23, № 16. – С. 9715-9720.
8. **Патент №2746064 Российская федерация, МПК G01R 33/46 (2006.01).** Способ полной корреляционной спектроскопии ЯМР со смешиванием спинов ядер в ультраслабом магнитном поле : № 2020126154 : заявл. 03.08.2020 : опубл. 06.04.2021/ Кирютин А. С., Гришин Ю.А., Жуков И.В., Иванов К.Л., Юрковская А.В.; заявитель МТЦ СО РАН. – 15 с.

Соответствие специальности 1.3.17 – химическая физика, горение и взрыв, физика экстремальных состояний вещества

Диссертационная работа соответствует п. 1 «химическая и спиновая динамика элементарных процессов, физика и физические теории химических реакций» и п. 5 «когерентные процессы в химии, когерентная химия – квантовая и классическая; спиновая динамика и спиновая химия; ... экспериментальные методы исследования химической, энергетической и спиновой динамики» паспорта специальности 1.3.17 – химическая физика, горение и взрыв, физика экстремальных состояний вещества.

Объем и структура работы

Диссертация изложена на 121 страницах машинописного текста, содержит 41 рисунок и 6 таблиц. Работа состоит из введения, обзора литературы (глава 1), описания методов исследования (глава 2), результатов и обсуждения (глава 3), заключения, основных результатов и выводов, списка используемых сокращений, списка цитируемой литературы из 136 пунктов, и одного приложения.

Благодарности

Автор работы выражает глубокую благодарность А.В. Юрковской за постановку задачи, научное руководство и помощь в работе над диссертацией; благодарит А.С. Кирютина и Н.Н. Фишман за помощь в подготовке и проведении экспериментов, Н.Н. Лукзена за помощь в разработке программ моделирования эффектов ХПЯ в бирадикалах, а также проф. Высшей Нормальной Школы Парижа Ф. Ферража, проф. Технического Университета Дармштадта Г. Бунтковского, проф. Вюрцбургского Университета К. Ламберта за любезно предоставленные вещества. Автор благодарен коллективам лаборатории фотохимических радикальных реакций и лаборатории теоретической спиновой химии за тёплую, творческую атмосферу, а также за ценные замечания и обсуждение результатов. Автор благодарен судьбе за невыносимо короткую возможность работать совместно с Константином Львовичем Ивановым, безвременно покинувшим этот свет, чьим личным примером вдохновляется автор, и без фундаментального вклада которого невозможно представить проделанную работу.

ГЛАВА 1: ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 ЭФФЕКТЫ СИЛЬНОЙ СВЯЗИ ЯДЕРНЫХ СПИНОВ В СЛАБОМ, УЛЬТРАСЛАБОМ, И НУЛЕВОМ МАГНИТНОМ ПОЛЕ

1.1.1 Условия перехода в режим сильной связи, антипересечение уровней энергии, адиабатическое и неадиабатическое переключение магнитного поля

Рассмотрим систему N спинов-1/2 диамагнитной молекулы, находящейся в невязком растворе. Не зависящая от времени часть Гамильтониана такой системы спинов имеет вид (в единицах \hbar):

$$\hat{H} = - \sum_{i=1}^N \nu_i \hat{I}_{z,i} + \sum_{i<j}^N J_{ij} (\hat{\mathbf{I}}_i \cdot \hat{\mathbf{I}}_j) \quad (1)$$

где ν_i – Ларморова частота прецессии спина i -ого ядра, определяемая напряжённостью магнитного поля B_0 и константой химического экранирования σ_i этого ядра выражением $\nu_i = \gamma B_0 (1 - \sigma_i)/2\pi$, а J_{ij} – константа скалярного спин-спинового взаимодействия i -ого и j -ого ядер. В зависимости от соотношения между разностью частот Ларморовой прецессии спинов i -ого и j -ого ядер $\delta\nu = |\nu_i - \nu_j|$ и амплитудой константы скалярного взаимодействия между ними $|J_{ij}|$ возможны различные режимы связи между спинами i -ого и j -ого ядер [40-42]. Ситуацию, в которой скалярное взаимодействие между спинами мало по сравнению с разностью частот, $|J_{ij}| \ll |\nu_i - \nu_j|$, называют режимом слабой связи спинов i -ого и j -ого ядер. Пару спинов в режиме слабой связи ещё называют системой АХ, которая проявляется в ЯМР спектре в виде двух изолированных мультиплетов, соответствующих сигналам ЯМР i -ого и j -ого ядер. Противоположную ситуацию, когда $|J_{ij}| \gtrsim |\nu_i - \nu_j|$, называют режимом сильной связи. В ЯМР спектре пары спинов в режиме сильной связи отсутствуют отдельные мультиплеты i -ого и j -ого ядер, такую структуру называют системой АВ.

Величина константы химического экранирования и константы скалярного спин-спинового взаимодействия определяются химическим окружением атома в молекуле, изменения этих величин можно достичь, например, в результате химической реакции. В то же время, разность частот Ларморовой прецессии ядерных спинов $\delta\nu$ прямо пропорциональна напряжённости внешнего магнитного поля B , действующего на спиновую систему. Таким образом, переключением величины действующего на образец магнитного поля можно переносить систему между режимами сильной и слабой связи, не меняя химическую структуру используемого вещества [41, 42]. Рассмотрим для примера простейший случай двух протонов, связанных константой скалярного взаимодействия 10 Гц, химические сдвиги которых различаются на 1 ppm. В поле 9.4 Тл (резонансная частота протонов 400 МГц) разность частот прецессии спинов протонов $\delta\nu = 400$ Гц намного превышает величину скалярного взаимодействия, спины протонов находятся в режиме слабой связи. Однако, если напряжённость магнитного поля ослабить более чем в 40 раз, до 200 мТл, эти же протоны окажутся в режиме сильной связи друг с другом.

Продолжим рассмотрение простейшего примера – пары ядерных спинов-1/2. Собственными функциями Гамильтониана (1) будут:

$$\begin{aligned} |1\rangle &= |\alpha\alpha\rangle = |T_+\rangle, & |2\rangle &= \cos\theta |\alpha\beta\rangle + \sin\theta |\beta\alpha\rangle \\ |3\rangle &= -\sin\theta |\alpha\beta\rangle + \cos\theta |\beta\alpha\rangle, & |4\rangle &= |\beta\beta\rangle = |T_-\rangle \end{aligned} \quad (2)$$

где угол смешивания θ определяется выражением $\theta = \frac{1}{2} \arctg(J/\delta\nu)$. В режиме слабой связи угол смешивания θ близок к нулю, и собственные функции системы даются Зеемановым базисом. Наоборот, при переходе в режим сильной связи $\theta \rightarrow \frac{\pi}{4}$, и собственным будет синглет-триплетный базис $|S\rangle, |T_+\rangle, |T_0\rangle, |T_-\rangle$. Зависимость уровней энергии системы от магнитного поля показана на рис.1. Если учитывать только секулярную часть скалярного взаимодействия, то в некотором поле уровни энергии состояний $|\alpha\beta\rangle$ и $|\beta\alpha\rangle$ оказываются равными друг другу – происходит пересечение уровней энергии. В действительности, скалярное взаимодействие спинов-1/2 содержит несекулярные слагаемые $\hat{I}_{x,i} \cdot \hat{I}_{x,j} + \hat{I}_{y,i} \cdot \hat{I}_{y,j}$, которые смешивают состояния $|\alpha\beta\rangle$ и $|\beta\alpha\rangle$, в результате чего зависимость энергии этих

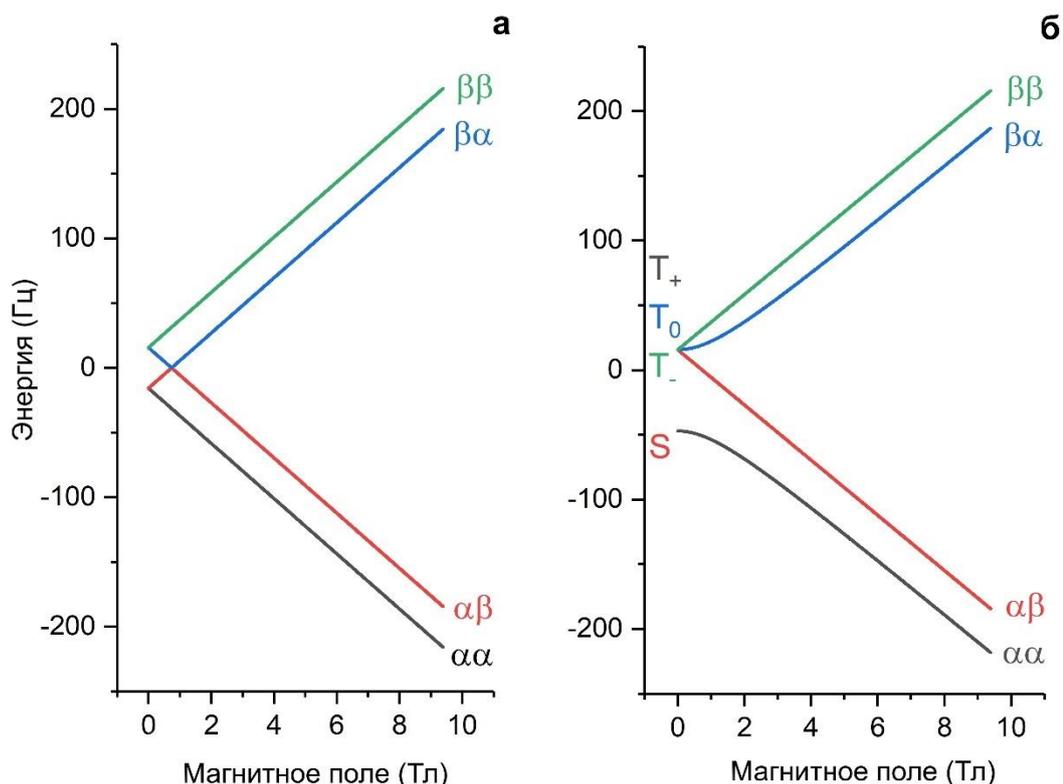


Рисунок 1. Зависимость уровней энергии двух протонов, связанных скалярным взаимодействием 10 Гц, от магнитного поля (во вращающейся с Ларморовой частотой системе отсчёта): (а) – с учётом только секулярной части скалярного взаимодействия $\hat{I}_{z,i} \cdot \hat{I}_{z,j}$, и (б) – при учёте несекулярных членов скалярного взаимодействия. Химический сдвиг первого протона равен 1 ppm, второго – 0 ppm.

уровней от магнитного поля меняется по сравнению с секулярным приближением – в нулевом поле возникает антипересечение уровней энергии состояний $|\alpha\beta\rangle$ и $|\beta\alpha\rangle$ [43].

При переключении поля важна скорость изменения собственных состояний Гамильтониана, в особенности при прохождении области антипересечения уровней энергии, поскольку при быстром (неадиабатическом) изменении собственных состояний населённости уровней системы до антипересечения проектируются на новые собственные состояния, характеризующие систему после антипересечения, а при медленном (адиабатическом) изменении собственных функций, уровни, участвующие в антипересечении, обмениваются населённостями [43]. Последнее утверждение является частным случаем адиабатической теоремы квантовой механики (М. Борн, В. А. Фок): «Физическая система остается в своем мгновенном собственном состоянии, если возмущение действует достаточно

медленно, и если это состояние отделено энергетической щелью от остального спектра Гамильтониана».

Математически условие адиабатичности изменения собственных функций системы для системы спинов можно записать в виде параметра Месса [43, 44]:

$$\xi_{ij} = \frac{\langle j | \frac{d}{dt} | i \rangle}{\delta v_{ij}} \quad (3)$$

где матричный элемент $\langle j | \frac{d}{dt} | i \rangle$ характеризует скорость изменения собственных функций системы в результате изменения параметров Гамильтониана (например, напряжённости внешнего магнитного поля), а δv_{ij} является разностью мгновенных значений энергии, соответствующих этим уровням системы. При адиабатическом изменении параметров Гамильтониана $\xi_{ij} \ll 1$ и собственные состояния системы меняются медленно; в ЯМР адиабатическое переключение поля используется для переноса населённости состояний спиновой системы в режиме слабой или сильной связи в интересующие состояния (например, долгоживущие) в противоположном режиме связи. В противоположном случае $\xi_{ij} \gg 1$ изменение Гамильтониана можно считать мгновенным; при не адиабатическом переключении поля состояние системы проектируется на новый собственный базис, что может сопровождаться возбуждением когерентных биений населённости между состояниями нового базиса.

1.1.2 Долгоживущие состояния ядерных спинов

Долгоживущими состояниями ядерных спинов называют коллективные состояния системы скалярно-связанных спинов в диамагнитной молекуле, которые вследствие своей симметрии слабо подвержены воздействию процессов ядерной спиновой релаксации по сравнению с другими состояниями системы. Простейшим примером долгоживущего состояния является синглетное состояние пары ядер одного изотопа со спином $\frac{1}{2}$ [45, 46]. Если разность частот прецессии этих ядер мала по сравнению с величиной скалярного взаимодействия между ними, то эти спины находятся в режиме сильной связи, а собственные волновые функции пары спинов близки к синглетному $|S\rangle = \frac{|\alpha\beta\rangle - |\beta\alpha\rangle}{\sqrt{2}}$ и триплетным

состояниям $|T_+\rangle = |\alpha\alpha\rangle$, $|T_0\rangle = \frac{|\alpha\beta\rangle + |\beta\alpha\rangle}{\sqrt{2}}$, $|T_-\rangle = |\beta\beta\rangle$; подразумевается, что в обозначении волновой функции в виде $|\alpha\alpha\rangle$ на первом месте стоит состояние спина первого ядра, а на втором – второго ядра. Для ядер со спином $\frac{1}{2}$ основной вклад в релаксацию в большинстве случаев вносит диполь-дипольное взаимодействие магнитных моментов ядер. Диполь-дипольное взаимодействие магнитных моментов ядер I и S даётся выражением, симметричным по перестановке спиновых операторов:

$$\hat{H}_{dd}(r) = b_{IS} \hat{I} \cdot \mathbf{D} \cdot \hat{S} = b_{IS} (\hat{I}\hat{S} - 3\hat{I} \cdot \frac{\mathbf{r}\mathbf{r}}{r^2} \cdot \hat{S}) \quad (4)$$

где $b_{IS} = \frac{\mu_0 \gamma_I \gamma_S \hbar}{4\pi r^3}$, γ_I (γ_S) – гиромангнитные отношения спинов I (S), r – расстояние между ними. Поскольку синглетное состояние антисимметрично по перестановке спинов, матричный элемент перехода из синглетного состояния в любое из триплетных состояний равен нулю. Поэтому пара ядер со спином $\frac{1}{2}$, находящихся в режиме сильной связи, обладает долгоживущим состоянием, поскольку синглетное состояние этой пары не подвержено релаксационным переходам, вызванным диполь-дипольным взаимодействием, в отличие от триплетных состояний.

Из-за «иммунитета» к диполь-дипольному взаимодействию, синглетное состояние пары спинов может обладать временем релаксации T_{LLS} , во много раз превышающим обычное время спин-решёточной релаксации T_1 [47-50]. Частным случаем долгоживущего состояния пары спинов является спиновый изомер молекулы водорода – пара-водород. Охлаждением водорода до низких температур в присутствии катализатора синглет-триплетной конверсии (оксида железа, парамагнитных частиц и т.п.) можно добиться сильного обогащения доли параводорода в газовой фазе (в равновесных условиях при комнатной температуре доля параводорода составляет $\frac{1}{4}$), которая сохраняется после нагрева до обычных температур в течении нескольких недель, в сосуде, хорошо очищенном от магнитных частиц.

Однако, зарегистрировать ЯМР переходы с участием чистого синглетного состояния, как у параводорода, невозможно из-за равного нулю суммарного спина синглетного состояния. Для получения доступа к населённости синглетного состояния необходимо наличие магнитной неэквивалентности спинов [46, 49-51].

Магнитная неэквивалентность спинов позволяет при использовании специальных импульсных последовательностей конвертировать поляризацию спинов (разницу населённостей триплетных состояний) в населённость синглетного состояния, и обратно [49, 50, 52] в сильном поле ЯМР спектрометра. Обычно конверсия производится путём адиабатического прохождения антипересечения уровней энергии в двух-спиновой сильно-связанной системе во вращающейся системе координат. При создании синглетного порядка в сильном поле ЯМР спектрометра для предотвращения синглет-триплетных переходов в результате слабой неэквивалентности спинов после конверсии намагничённости в синглетный порядок используют спин-локинг [45, 49].

Кроме генерации долгоживущих синглетных состояний при помощи специально сконструированных импульсных последовательностей, возможно спонтанное формирование долгоживущих состояний в ходе создания ядерной спиновой гиперполяризации методами ИППЯ [53], ДПЯ [54], или ХПЯ [47, 55]. Другим способом создания долгоживущего синглетного состояния пары спинов является медленное переключение действующего на образец внешнего магнитного поля, которое адиабатически переводит пару спинов-1/2 в режим сильной связи [56-58]. Адиабатическое переключение поля позволяет эффективно конвертировать разность населённостей спинов в населённость синглетного состояния. Если при переключении поля происходит нарушение условия адиабатичности, то возбуждается нуль-квантовая когерентность пары спинов, выражающаяся в периодическом обмене поляризацией спинов ядер друг с другом [41]. Хотя полностью не подвержены релаксации из-за диполь-дипольного взаимодействия только системы спинов-1/2, обладающие центром инверсии [46], возможно формирование долгоживущих состояний и в других системах, содержащих более двух сильно-связанных спинов, если несущая их молекула обладает высокой пространственной симметрией [59-63].

Свойства долгоживущих синглетных состояний спинов нашли применение в различных областях ЯМР. Например, чувствительность времени релаксации синглетного состояния к перестройке ближайшего окружения позволяет определять геометрические характеристики молекулы [48, 64, 65]. Увеличенное по сравнению с обычным временем продольной релаксации время жизни

синглетного состояния делает возможным изучение методом ЯМР медленных динамических процессов, таких как химический обмен [66] или диффузия [67].

Ранее в этом разделе рассматривались практически исключительно только долгоживущие состояния протонов. К настоящему времени лишь сравнительно небольшое количество работ посвящено изучению свойств гетероядерных долгоживущих состояний [51, 68-77]. Нужно различать два вида гетероядерных долгоживущих состояний. Долгоживущие состояния первого вида соответствуют спиновым системам, состоящим из протонов и магнитно-неэквивалентной пары ядер некоторого магнитного изотопа (гетероядер), причём положения пары этих атомов в молекуле должны быть химически эквивалентными [49, 50]. Под химической эквивалентностью понимается существование операции пространственной симметрии в молекуле, под действием которой атомы меняются местами. Условие магнитной эквивалентности ядер более строгое: необходимо равенство констант скалярного спин-спинового взаимодействия ядерных спинов с одними и теми же ядерными спинами скалярно-связанной спиновой системы. Из-за различия в величине спин-спиновых взаимодействий гетероядер с одними и теми же протонами в спин-гамильтониане происходит нарушение симметрии по перестановке спинов гетероядер, что делает возможным создание синглетного порядка в паре спинов гетероядер и манипуляцию его состоянием [51, 68-72].

Долгоживущие состояния второго вида относятся к синглетному порядку в парах ядер магнитных изотопов со спином $\frac{1}{2}$ с различающимся гиромагнитным отношением, таких как ^1H - ^{13}C , ^{13}C - ^{15}N и др [73-77]. В гетероядерных долгоживущих состояниях второго рода разность частот прецессии ядерных спинов $\delta\nu$ определяется произведением магнитного поля и разницы гиромагнитных отношений магнитных изотопов, которая зачастую по порядку величины соответствует собственно частотам прецессии ν_I и ν_S . Например, в паре ^1H - ^{13}C разница частот прецессии составляет приблизительно $\frac{3}{4}$ от частоты прецессии протонов. Поскольку скалярное спин-спиновое взаимодействие в паре ^1H - ^{13}C не сильно превышает 250 Гц, ясно, что для перехода в режим сильной связи, необходимый для формирования долгоживущего состояния, систему спинов требуется поместить в магнитное поле напряжённостью не более чем несколько

микротесла, т.е. в поле на порядок более слабое, чем магнитное поле Земли. Настолько слабое магнитное поле называют нулевым или ультраслабым (англ. Zero- or Ultra-Low Field, ZULF), достигается оно при помощи экранирования магнитного поля Земли несколькими слоями металла с высокой магнитной проницаемостью [78]. Точно так же, как и в парах магнитных ядер одного изотопа, в условиях сильной связи собственными состояниями пары спинов являются синглетное и три триплетных состояния. Антисимметричное синглетное состояние пары спинов оказывается невосприимчивым к релаксации из-за диполь-дипольного взаимодействия между спинами, и поэтому оно обладает длительным временем релаксации.

1.1.3 ЯМР в нулевом поле

В настоящее время стандартным способом получения спектра ЯМР является Фурье-преобразование сигнала спада свободной индукции ядерных спинов, записываемого после приложения 90-градусного РЧ импульса. Эта так называемая индуктивная, или Фарадеевская, схема детектирования ЯМР сигнала, используемая в абсолютном большинстве современных ЯМР спектрометров с Фурье-преобразованием. Однако, возможен и другой способ получения спектров, содержащих информацию о магнитных взаимодействиях ядер в диамагнитных веществах. Этот способ заключается в прямом детектировании осцилляций намагниченности образца при помощи высокочувствительного атомного магнетометра после возбуждения нуль-квантовых осцилляций в парах магнитных ядер с различающимися гиромагнитными отношениями [20, 79, 80]. Эти осцилляции вызваны спин-спиновым взаимодействием между магнитными ядрами с различающимися гиромагнитными отношениями, а частоты осцилляций зависят от количества магнито-эквивалентных ядер и в первом приближении пропорциональны константам скалярного взаимодействия. Спектр, получаемый в результате Фурье-преобразования осцилляций намагниченности образца под действием скалярного спин-спинового взаимодействия в нулевом поле, называют спектром ЯМР в нулевом поле (англ. ZULF NMR). Хотя этот спектр не связан с

резонансным поглощением электромагнитного излучения, он несёт в себе информацию о магнитных взаимодействиях спинов ядер в диамагнитной молекуле, в частности, о величине констант скалярного спин-спинового взаимодействия.

Атомные магнетометры обладают высокой чувствительностью порядка 20-30 фТл/Гц^{1/2}, однако доступное для измерения магнитное поле обычно не превышает по величине единицы наноТесла, что ограничивает область применения атомных магнетометров ZULF режимом. Недавно была показана возможность создания ограниченной области внутри магнитного экрана со сравнительно большим магнитным полем, порядка нескольких сотен нТл, в которой помещается образец, осцилляции поперечной намагниченности которого на Ларморовой частоте в несколько кГц регистрировались при помощи атомного магнетометра, расположенного в области нулевого магнитного поля [81].

Достоинством ЯМР в нулевом поле является высокое спектральное разрешение. Поскольку абсолютное значение остаточного магнитного поля очень мало, соответственно, очень малым оказывается и неоднородное уширение сигналов в спектре. Ширина сигналов в спектре ЯМР в нулевом поле определяется исключительно временем релаксации нуль-квантовой когерентности, и зачастую составляет практически недостижимые для высокопольных ЯМР спектрометров единицы мГц [82]. Остаточное магнитное поле вызывает медленную прецессию ядерных спинов, что при его достаточно большой амплитуде приводит к расщеплению линий в спектре ЯМР в нулевом поле [83]. В спектре ЯМР, полученном стандартным способом в сильном поле, ширина линии зачастую определяется неоднородностью магнитного поля в объёме образца, для устранения которой требуются значительные усилия. Для гетерогенных образцов в сильном магнитном поле невозможно добиться высокой однородности магнитного поля, что затрудняет их изучение стандартными методами ЯМР, но допускает изучение методом ЯМР в нулевом поле. Кроме того, из-за очень низкой частоты осцилляций намагниченности, метод ЯМР в нулевом поле можно использовать для мониторинга процессов, происходящих внутри металлического сосуда [84]: глубина скин-слоя на этих частотах оказывается достаточно большой

по сравнению с толщиной стенок сосуда. Это позволяет методом ЯМР в нулевом поле следить за ходом химических превращений внутри металлического реактора.

1.2 ХИМИЧЕСКАЯ ПОЛЯРИЗАЦИЯ ЯДЕР В РЕАКЦИЯХ С УЧАСТИЕМ КОРОТКОЖИВУЩИХ БИРАДИКАЛОВ. МЕХАНИЗМЫ ФОРМИРОВАНИЯ ХИМИЧЕСКОЙ ПОЛЯРИЗАЦИИ ЯДЕР В ПРОДУКТАХ ФОТОИНДУЦИРОВАННЫХ ХИМИЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ.

Химически индуцируемая поляризация ядер – ХПЯ (англ. CIDNP – chemically induced dynamic nuclear polarization) [16, 17] – один из методов создания гиперполяризации, основанный на спин-селективной рекомбинации радикалов. Часто рекомбинация запрещена из триплетного и разрешена из синглетного электронного спинового состояния радикальной пары. На необходимости синглет-триплетных переходов для пары основана зависимость скорости рекомбинации короткоживущих пар радикалов от магнитных взаимодействий, поскольку только они могут изменить спиновое электронное состояние радикальной пары. Такими взаимодействиями являются, во-первых, Зеемановское спиновое взаимодействие с внешним магнитным полем, при этом к изменению спинового состояния радикальной пары приводит разность g -факторов радикалов, и во-вторых, сверхтонкое взаимодействие ядерных и электронных спинов. Зависимость скорости рекомбинации радикалов от ядерного спина приводит к формированию ядерной спиновой поляризации – ХПЯ. Метод ХПЯ отличается сравнительной простотой реализации – известны способы создания спин-коррелированных радикальных пар в результате термолита материнской молекулы, [16, 22], при импульсном фотолизе или радиолитизе [23, 24].

Методом ХПЯ можно усиливать сигналы в ЯМР спектре в 10^3 - 10^4 раз. Наряду с другими косвенными методами, применяемыми для регистрации короткоживущих радикалов, такими, как MARY (англ. magnetic field affected reaction yield), EPR (англ. electron paramagnetic resonance), OD EPR (англ. optically detected EPR), метод ХПЯ позволяет получать уникальную информацию о механизме реакций и структуре короткоживущих радикалов, например, об электрон-ядерном сверхтонком взаимодействии с атомным разрешением, об электронном обменном взаимодействии, о влиянии магнитного поля на протекание реакции с участием парамагнитных частиц, зачастую недоступную для MARY и OD EPR. Ранее метод ХПЯ широко использовался для изучения

радикальных интермедиатов биологически активных молекул, в частности, аминокислот [25-27], азотистых оснований нуклеиновых кислот [28-31], пептидов [32-35] и олигонуклеотидов [36-39].

Формирование неравновесной поляризации ядер в продуктах химических реакций, проявляющееся в спектрах ЯМР в виде сигналов аномальной интенсивности и фазы, было обнаружено в 1967 году Баргоном, Фишером и Йонсоном [16], и, независимо, Уордом и Лоуэром [17]. Уже в первых работах была отмечена связь формирования ядерной поляризации с образованием свободных радикалов – частиц с неспаренными электронами. По аналогии с уже известным к тому времени явлением динамической поляризации ядер (ДПЯ) [11, 12] наблюдаемый эффект получил название - химически индуцированная динамическая поляризация ядер (ХПЯ).

Кроме формирования ХПЯ в диамагнитных продуктах химических реакций, в спектрах электронного парамагнитного резонанса (ЭПР) радикалов, участвующих в приводящих к формированию ХПЯ реакциях, также наблюдались сигналы необычной интенсивности и фазы [85, 86], указывающие на неравновесную населённость спиновых уровней электронов. Этот эффект, по аналогии с эффектом химической поляризации ядер, назвали химически индуцируемой поляризацией электронов (ХПЭ).

Общее объяснение эффектов ХПЯ и ХПЭ было предложено в работах Г. Л. Клосса [87], и Р. Каптейна совместно с Л. Остерхофом [88]. Центральным в модели формирования ХПЯ и ХПЭ является понятие спин-коррелированной радикальной пары (РП) – пары свободных радикалов в определенном спиновом состоянии, образовавшихся в результате переноса электрона или разрыва ковалентной химической связи в родительской молекуле. В ходе элементарного акта химической реакции, такого как разрыв или образование ковалентной химической связи, суммарный спин участвующих в реакции электронов, как правило, не меняется. Пара электронов может находиться либо в состоянии с полным спином $S=0$ – синглетном состоянии $|S\rangle = \frac{|\alpha\beta\rangle - |\beta\alpha\rangle}{\sqrt{2}}$, либо в одном из триплетных состояний $|T_+\rangle = |\alpha\alpha\rangle$, $|T_0\rangle = \frac{|\alpha\beta\rangle + |\beta\alpha\rangle}{\sqrt{2}}$, $|T_-\rangle = |\beta\beta\rangle$, соответствующих полному спину $S=1$. В

работах [87, 88] было показано, что эффекты ХПЯ и ХПЭ можно объяснить выполнением двух условий:

- 1) спиновая селективность химической реакции рекомбинации: как правило, синглетное и триплетное состояния РП реагируют с различными скоростями,
- 2) зависимость скорости интеркомбинационных переходов между синглетным и триплетным состояниями радикальной пары от магниторезонансных параметров, таких как разность g -факторов радикалов и сверхтонкое взаимодействие электронов и магнитных ядер. Таким образом формируется зависимость скорости синглет-триплетных переходов от спинового состояния ядер, взаимодействующих с неспаренными электронами радикалов.

Изотропная часть спинового гамильтониана, описывающего эволюцию спинов электронов и ядер радикальной пары в невязкой жидкости, включает в себя Зеемановское взаимодействие неспаренных электронов радикалов (характеризуемых в общем случае разными g -факторами) с магнитным полем \vec{B}_0 , обменное взаимодействие J_{ex} между электронами S_1 и S_2 , и сверхтонкое взаимодействие электронов S_i с магнитными ядрами I_k (5):

$$\hat{H} = g_1 \beta \vec{B}_0 \hat{S}_1 + g_2 \beta \vec{B}_0 \hat{S}_2 - J_{ex} \left(\frac{1}{2} + 2 \hat{S}_1 \hat{S}_2 \right) + \sum_{i=1,2} \sum_{k=1 \dots n_i} A_{ik} \hat{S}_i \hat{I}_k \quad (5)$$

В зависимости от соотношения между значениями параметров взаимодействий формирование ХПЯ происходит по различным механизмам, которые рассматриваются в следующих разделах.

1.2.1 Эффект ХПЯ в реакциях с участием свободных радикалов. Механизм радикальных пар

Для радикальных пар, рождённых в невязких растворах в сильном магнитном поле, при относительном диффузионном движении радикалов на расстояния больше размера молекулы растворителя, обменное взаимодействие в среднем (по траектории РП) мало по сравнению с другими взаимодействиями. Рассмотрим формирование ХПЯ в случае простейшей системы: радикальной пары с одним магнитным ядром и константой сверхтонкого взаимодействия $A > 0$. В

сильном магнитном поле, $1/2 (g_1 + g_2)\beta B_0 \gg A$ и J_{ex} ($g_i, i = 1, 2$ – g-фактор i -ого радикала), достаточно рассмотреть только переходы между состояниями $|S\rangle$ и $|T_0\rangle$ радикальной пары [87-90]. Волновая функция системы является когерентной суперпозицией состояний $|S\rangle$ и $|T_0\rangle$:

$$\begin{aligned} |\varphi^{\alpha_N}\rangle(t) &= |\alpha_N\rangle(C_S^{\alpha_N}(t)|S\rangle + C_{T_0}^{\alpha_N}(t)|T_0\rangle) \\ |\varphi^{\beta_N}\rangle(t) &= |\beta_N\rangle(C_S^{\beta_N}(t)|S\rangle + C_{T_0}^{\beta_N}(t)|T_0\rangle) \end{aligned} \quad (6)$$

Подставляя волновую функцию $|\varphi^{\alpha_N}\rangle(t)$ в уравнение Шредингера с Гамильтонианом (5) и умножая результат слева на $\langle S|$ и $\langle T_0|$, получаем систему уравнений для зависящих от времени коэффициентов волновой функции (частоты измеряются в единицах \hbar):

$$\begin{aligned} i \frac{\partial C_S^{\alpha_N}(t)}{\partial t} &= J_{ex} C_S^{\alpha_N}(t) + \left(\frac{1}{2} \Delta g \beta B + \frac{1}{4} A \right) C_{T_0}^{\alpha_N}(t) \\ i \frac{\partial C_{T_0}^{\alpha_N}(t)}{\partial t} &= \left(\frac{1}{2} \Delta g \beta B + \frac{1}{4} A \right) C_S^{\alpha_N}(t) - J_{ex} C_{T_0}^{\alpha_N}(t) \end{aligned} \quad (7)$$

где $\Delta g = g_1 - g_2$. Аналогичную (7) систему можно записать для зависящих от времени коэффициентов волновой функции $|\varphi^{\beta_N}\rangle(t)$. Предполагая триплетное начальное спиновое состояние радикальной пары, $|C_{T_0}^{\alpha_N, \beta_N}(0)|^2 = 1$, решение системы уравнений (7) имеет вид:

$$\begin{aligned} C_S^{\alpha_N, \beta_N}(t) &= -i \frac{1/2 \Delta g \beta B \pm 1/4 A}{D^{\alpha_N, \beta_N}} \sin(D^{\alpha_N, \beta_N} \cdot t) \\ C_{T_0}^{\alpha_N, \beta_N}(t) &= \cos(D^{\alpha_N, \beta_N} \cdot t) - i \frac{J_{ex}}{D^{\alpha_N, \beta_N}} \sin(D^{\alpha_N, \beta_N} \cdot t) \end{aligned} \quad (8)$$

где $D^{\alpha_N, \beta_N} = \sqrt{(1/2 \Delta g \beta B \pm 1/4 A)^2 + J_{ex}^2}$; Знаки «+» и «-» относятся к индексам α_N и β_N , соответственно. Зная зависимость коэффициентов волновой функции от времени, легко посчитать вероятность обнаружения радикальной пары в синглетном состоянии к моменту времени t :

$$|C_S^{\alpha_N, \beta_N}(t)|^2 = \frac{(1/2 \Delta g \beta B \pm 1/4 A)^2}{(D^{\alpha_N, \beta_N})^2} \sin^2(D^{\alpha_N, \beta_N} \cdot t) \quad (9)$$

Из формулы (9) видно, что для α_N и β_N состояний ядерного спина эти вероятности различаются. Таким образом, в результате синглет-триплетной эволюции радикальные пары с определённой проекцией ядерного спина (в

данном случае α_N) к моменту времени t рекомбинируют с бóльшей вероятностью, чем радикальные пары с противоположной проекцией ядерного спина, т.е. происходит сортировка продуктов реакции по состояниям ядерного спина. При наличии конкурирующего с синглет-триплетной интерконверсией не зависящего от состояния ядерного спина процесса гибели радикальной пары, определяющего время её существования $t_{live} < 1/D^{m_N}$, формируется неравновесная населённость ядерных спиновых уровней, т.е. ХПЯ.

1.2.2 Эффект ХПЯ в реакциях с участием бирадикалов. J-механизм

В сильном поле $1/2 (g_1 + g_2)\beta B_0 \gg J_{ex}$ основным каналом формирования ХПЯ в радикальных парах и бирадикалах является $S - T_0$ механизм, рассмотренный в предыдущем разделе. В то же время, в промежуточных полях $g\beta B_0 \sim J_{ex}$, $g\beta B_0 \gg A$ – в которых отсутствует эффективный механизм формирования ХПЯ в радикальных парах, для бирадикалов возможно формирование ХПЯ по J-механизму. В бирадикалах – частицах с двумя неспаренными электронами, расположенными в разных частях одной молекулы – максимальное расстояние между радикалами ограничено количеством и длиной химических связей в этой молекуле. Поэтому обменное взаимодействие играет важную роль в формировании ХПЯ.

Рассмотрим механизм формирования неравновесной поляризации ядерных спинов в короткоживущих бирадикалах с фиксированным обменным взаимодействием J_{ex} на примере бирадикала с жесткой структурой (т.е. узким распределением по расстояниям между радикальными центрами), содержащего одно магнитное ядро со спином $1/2$, причем константа изотропного СТВ A_{iso} много меньше обменного взаимодействия: $|A_{iso}| \ll |J_{ex}|$. В такой системе вблизи пересечения уровней энергии синглетного состояния S и одного из триплетных электронных состояний (T_+ или T_-) бирадикала в зависимости ядерной поляризации от магнитного поля будет наблюдаться характерный экстремум ядерной поляризации для диамагнитных продуктов реакции, «J-резонанс».

Причиной возникновения ХПЯ в J-резонансе является то, что несекулярная часть электрон-ядерного сверхтонкого взаимодействия вызывает переходы между спиновыми состояниями с одинаковой проекцией суммарного спина электронов и ядер на направление внешнего магнитного поля. Несекулярная часть СТВ изменяет пересечение уровней на антипересечение (см. рис.2).

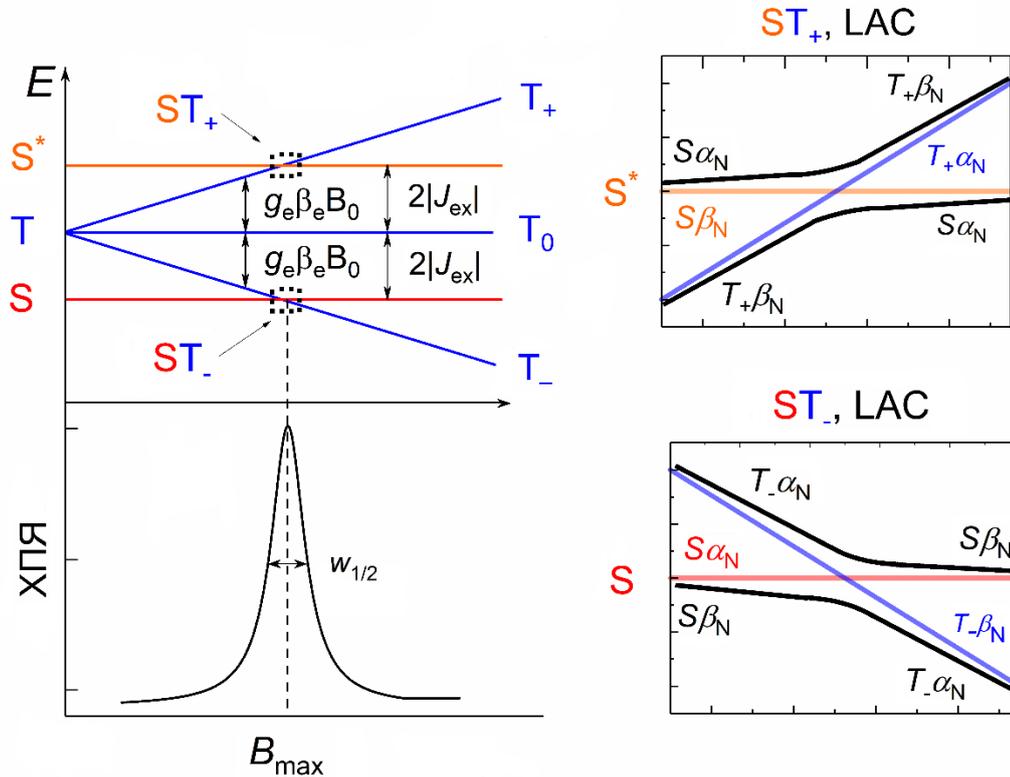


Рисунок 2. Формирование ХПЯ по $S \leftrightarrow T_{\pm}$ механизму. Слева сверху показана зависимость уровней энергии бирадикала от магнитного поля: триплетные уровни обозначены T_{-} , T_0 и T_{+} ; синглетное состояние при отрицательном знаке обменного взаимодействия обозначено как S , а при положительном знаке обменного взаимодействия – как S^* . На двух вставках справа в увеличенном масштабе показаны антипересечения S^*T_{+} , для случая $J_{ex} > 0$ (сверху), и ST_{-} , для случая $J_{ex} < 0$ (снизу). В первом случае СТВ приводит к антипересечению уровней $S^*\alpha_N \leftrightarrow T_{+}\beta_N$, а во втором – $S\beta_N \leftrightarrow T_{-}\alpha_N$.

Например, в случае отрицательного знака обменного взаимодействия $J_{ex} < 0$ (при этом синглетное состояние находится ниже по энергии, чем триплетное), в магнитном поле $B_0 = 2|J_{ex}|$ пересекаются электронные уровни энергии для состояний S и T_{-} , а СТВ с ядром вызывает антипересечение (англ. LAC – Level Avoided Crossing) уровней $S\beta_N$ и $T_{-}\alpha_N$ с одинаковой проекцией полного спина $M_z = -1/2$, но не возмущает энергии состояний $S\alpha_N$ и $T_{-}\beta_N$. При наличии СТВ в области антипересечения уровней происходит когерентное смешивание спинов, резко увеличивающие скорость переходов между электрон-ядерными состояниями

системами $S\beta_N$ и $T_-\alpha_N$, что в случае рожденной в синглетном состоянии радикальной пары и рекомбинации из синглетного состояния радикальной пары приводит к уменьшению населённости состояния β_N ядерного спина относительно равновесной населённости в диамагнитном продукте реакции рекомбинации. Поскольку интенсивность сигнала ЯМР в диамагнитном продукте пропорциональна разности населённостей состояний α_N и β_N , уменьшение населённости состояния β_N проявляется в спектре ЯМР в виде усиления интенсивности поглощения РЧ на частоте, соответствующего данному ядру в диамагнитном продукте. Напротив, в случае рождения радикальной пары в триплетном состоянии (при отрицательном обменном взаимодействии $J_{ex} < 0$) и рекомбинации из синглетного состояния антипересечение $S\beta_N \leftrightarrow T_-\alpha_N$ приводит к обогащению населённости проекции β_N ядерного спина в продукте реакции рекомбинации, что проявляется в спектре ЯМР в виде эмиссионного сигнала данного ядра в диамагнитном продукте реакции [91-93].

Стоит отметить, что при таком механизме формирования ХПЯ знак эффекта не зависит от знака константы СТВ, поскольку выбор канала синглет-триплетных переходов определяется структурой энергетических уровней системы. Кроме того, в отличие от $S - T_0$ механизма формирования ХПЯ в сильном поле, при формировании ХПЯ по J -механизму ядерная поляризация создаётся в ходе элементарного акта реакции даже при отсутствии конкурирующего процесса гибели радикалов, не зависящего от состояния ядерного спина [89, 94, 95].

Для отрицательного обменного взаимодействия $J_{ex} < 0$ в поле $B_0 = 2|J_{ex}|$ происходит пересечение электронных уровней энергий состояний S и T_- . Наличие СТВ с магнитным ядром со спином $\frac{1}{2}$ преобразует это пересечение уровней в антипересечение уровней $S\beta_N$ и $T_-\alpha_N$, в то время как во второй паре уровней $S\alpha_N$ и $T_-\beta_N$ сохраняется пересечение, т.к. переход $S\alpha_N \leftrightarrow T_-\beta_N$ под действием СТВ запрещён из-за сохранения величины проекции суммарного спина (см. рис.2). В случае положительного обменного взаимодействия $J_{ex} > 0$ ситуация схожая, однако в поле $B_0 = 2|J_{ex}|$ происходит пересечение уровней S^* и T_+ , при этом СТВ вызывает переходы только между состояниями $S^*\alpha_N$ и $T_+\beta_N$.

При любом знаке обменного взаимодействия J_{ex} в области антипересечения уровней энергии в поле $B_0 = 2|J_{ex}|$ происходит эффективный перенос поляризации

спинов электронов на ядерные спины. Если известны начальное спиновое состояние бирадикала и спиновое состояние, из которого происходит рекомбинация, то по знаку наблюдаемого эффекта ХПЯ можно судить о знаке обменного взаимодействия $2J_{ex}$. Например, для бирадикалов, рожденных в синглетном состоянии и рекомбинирующих (с конечной скоростью) тоже из синглетного состояния, в случае положительного знака обменного взаимодействия $2J_{ex} > 0$ будет наблюдаться отрицательный эффект ХПЯ, а в случае отрицательного знака обменного взаимодействия $J_{ex} < 0$ – наоборот, будет наблюдаться положительный эффект ХПЯ.

Наконец, при наличии движения радикальных центров бирадикала относительно друг друга происходит изменение величины обменного взаимодействия. Поскольку ХПЯ по J-механизму наиболее эффективно формируется в окрестности анти-пересечения $S - T_{\pm}$, для членов ансамбля бирадикалов с различными значениями обменного взаимодействия максимум ХПЯ будет достигаться при различных напряжённостях магнитного поля [92, 93, 96, 97]. Поэтому, полевая зависимость ХПЯ, сформированной по J-механизму, отражает распределение обменного взаимодействия в ансамбле бирадикалов [98]. В общем случае, обменное взаимодействие зависит как от расстояния, так и от взаимной ориентации молекулярных орбиталей, занятых неспаренными электронами. Для простоты при моделировании полевой зависимости ХПЯ обычно учитывают только экспоненциальное уменьшение обменного взаимодействия с расстоянием.

1.2.3 Моделирование эффектов ХПЯ в бирадикалах

Расчёт кинетики магнитного эффекта или полевой зависимости ХПЯ для реальных систем, таких как диады «донор-линкер-акцептор» или флавинадениндинуклеотид - кофактор криптохромов, связан с большими вычислительными трудностями, вызванными необходимостью учёта большого количества магнитных ядер. При моделировании динамики систем спинов удобно перейти от использования волновых функций $|\Psi_i\rangle(t)$ к оператору плотности

системы $\hat{\rho}(t) = \rho_{ij} |\Psi_j\rangle\langle\Psi_i|$. Из уравнения Шредингера, описывающего эволюцию волновой функции системы, можно вывести уравнение Лиувилля-фон-Неймана:

$$\frac{\partial \hat{\rho}(t)}{\partial t} = -\frac{i}{\hbar} [\hat{H}(t), \hat{\rho}(t)] \quad (10)$$

где $\hat{H}(t)$ – в общем случае зависящий от времени гамильтониан системы, $[\hat{H}(t), \hat{\rho}(t)] = \hat{H}(t)\hat{\rho}(t) - \hat{\rho}(t)\hat{H}(t)$ – коммутатор гамильтониана и оператора плотности системы. Для моделирования спиновой динамики обычно вводят оператор плотности спиновой системы $\hat{\sigma}(t) = Tr \hat{\rho}(t)$, где след берётся по всем переменным системы, кроме спиновых. Взаимодействие спиновых и остальных степеней свободы обычно имеет стохастический характер и вызывает релаксацию спинового порядка. Поэтому, на практике, при неизменности внешних условий (температура, напряжённости электрического и магнитного полей и т.д.), полный гамильтониан $\hat{H}(t)$ можно разделить на постоянный вклад \hat{H}_0 и вклад от зависящих от времени взаимодействий $\hat{H}_1(t)$, вызывающих релаксационные процессы. В результате, уравнение Лиувилля-фон Неймана для системы спинов, участвующих в химических превращениях, принимает вид [99]:

$$\frac{\partial \hat{\sigma}(t)}{\partial t} = \hat{L}\hat{\sigma}(t) + \hat{R}\hat{\sigma}(t) + \hat{K}\hat{\sigma}(t) \quad (11)$$

где $\hat{L}_{ij,kl} = -\frac{i}{\hbar} (\hat{H}_{i,j}\delta_{k,l} - \delta_{i,j}\hat{H}_{k,l})$ – супер-оператор Лиувилля, $\hat{R}_{ij,kl}$ – релаксационный супер-оператор, $\hat{\sigma}_{ij}$ – оператор плотности в виде вектор-столбца ($\hat{\sigma}_{ij} \equiv \hat{\sigma}_{i,j}$, где $\hat{\sigma}_{i,j}$ – «обычное» матричное представление оператора плотности); $\hat{K}_{ij,kl}$ – супер-оператор, описывающий химические превращения.

Наглядное соотношение между Гильбертовым пространством волновых функций и Лиувилевым пространством оператора плотности показано на рис.3. Для примера рассмотрим систему из $N = 3$ частиц со спином $\frac{1}{2}$. В «обычном» пространстве операторов матричное представление оператора плотности даётся квадратной матрицей $\hat{\sigma}_{i,j}$ размерностью $2^N \times 2^N = 8 \times 8$, состоящей из $2^{2N} = 64$ элементов. В матричном представлении пространства супероператоров оператор плотности $\hat{\sigma}_{ij}$ этой системы даётся 64-х элементным вектор-столбцом, а супероператоры представляются матрицами размерностью $2^{2N} \times 2^{2N} = 64 \times 64$, содержащими $2^{4N} = 4096$ элементов.

Очевидно, что ограниченность вычислительной мощности и объема оперативной памяти современных компьютеров устанавливают предел для количества частиц в моделируемой спиновой системе. В этой связи важными являются подходы, позволяющие упростить вычислительную сложность задачи без существенной потери качества описания.

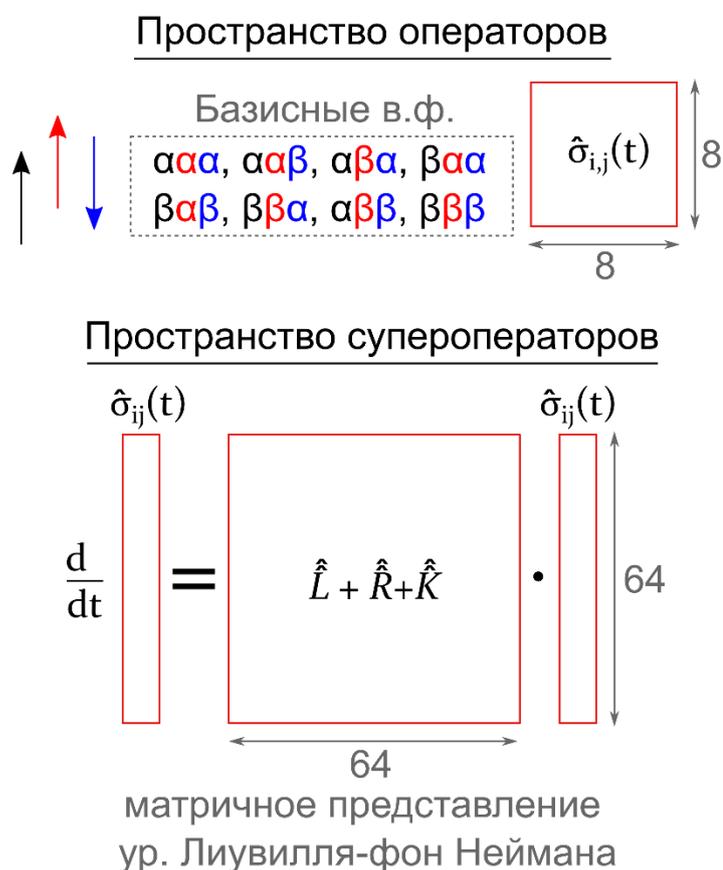


Рисунок 3. Соотношение между матричными представлениями пространства операторов и пространства супероператоров для системы трех частиц со спином $\frac{1}{2}$.

Для систем многих спинов, таких как радикалы органических веществ с делокализацией электронной плотности по большому числу магнитных ядер, свою эффективность показало так называемое полуклассическое приближение [100]. В рамках этого приближения эволюцию спина электрона можно описать как прецессию вокруг суммарного внешнего \vec{B}_0 и локального $\vec{B}_L = \sum_n A_n \vec{I}_n$ магнитных полей. Предполагается нормальное (Гауссово) распределение амплитуды локального поля по ансамблю радикалов. При этом среднеквадратичное значение амплитуды случайным образом ориентированного локального поля дается выражением:

$$\langle \vec{B}_L^2 \rangle = \frac{1}{6} \sum_n A_n I_n (I_n + 1) \quad (12)$$

Полуклассическое приближение применимо, если $\sqrt{\langle \vec{B}_L^2 \rangle} \gg A_n$ для любого n . В работе [101] Осинцев и соавторы показали, что для корректного описания эволюции электронного спина в полуклассическом приближении нормальное распределение по амплитуде локального поля можно с достаточной точностью заменить на δ -распределение $\Phi(B_L) = \delta\left(B_L - \sqrt{2 \langle \vec{B}_L^2 \rangle}\right)$.

Релаксация спинов электронов в бирадикале определяется модуляцией диполь-дипольного взаимодействия электронов, спин-орбитального взаимодействия и анизотропного СТВ при вращательной диффузии бирадикала в растворе [102, 103]. Возможен как феноменологический подход к описанию релаксации в терминах времён T_1 и T_2 продольной и поперечной релаксации, так и более строгий подход к описанию релаксационных процессов с использованием теории Редфилда [104]. Использование строгого подхода улучшает возможности моделирования, однако платой за это является возрастание вычислительной сложности моделирования.

Влияние химической реакции на динамику спинов выражается в уменьшении со временем количества реакционноспособных частиц. Наиболее часто для описания химических процессов используют подход Хаберкорна [105]:

$$\hat{K} \hat{\sigma} = -\frac{k_S}{2} [\hat{P}_S \hat{\sigma} + \hat{\sigma} \hat{P}_S] - \frac{k_T}{2} [\hat{P}_T \hat{\sigma} + \hat{\sigma} \hat{P}_T] \quad (13)$$

где k_S и k_T – константы скорости рекомбинации из синглетного и триплетного состояний, а \hat{P}_S и \hat{P}_T – проекторы на синглетное и триплетное состояния, соответственно. Однако, недавно было показано, что последовательный учёт взаимодействия спиновых степеней свободы и решётки позволяет получить более общее выражение для супер-оператора \hat{K} [106, 107].

ГЛАВА 2: МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 УСТАНОВКА ЯМР С БЫСТРЫМ ПЕРЕКЛЮЧЕНИЕМ ПОЛЯ В УЛЬТРА-ШИРОКОМ ДИАПАЗОНЕ МАГНИТНЫХ ПОЛЕЙ

Эксперименты проводились на ЯМР спектрометре высокого разрешения Bruker Avance III HD (магнитное поле для приложения РЧ импульсов и регистрации сигнала спада свободной индукции $B_0 = 9.4$ Тл, резонансная частота протонов 400.13 МГц), оснащённом устройством для переключения магнитного поля, разработанной в Лаборатории ФРП МТЦ СО РАН с.н.с., к.х.н А.С. Кирютиным и д.ф.м.н. Гришиным Ю.А; её устройство опубликовано в совместной с автором работе [75]. Изменение величины магнитного поля, действующего на образец, достигалось позиционированием образца путем его механического перемещения в поле рассеяния сверхпроводящего соленоида спектрометра вдоль его теплого отверстия; зависимость магнитного поля от положения образца была откалибрована с помощью измерителя магнитного поля. Позиционирование образца воспроизводится с высокой точностью, лучше 0.1 мм.

В устройстве для перемещения образца используется зубчатая рейка с закреплённой на её торце втулкой, в которой фиксируется стандартная 5 мм ЯМР ампула с образцом (см. рис.4). Установленная на зубчатой рейке втулка достаточно свободно перемещается вдоль тёплого отверстия сверхпроводящего магнита, и в то же время не допускает существенного смещения образца в поперечном к оси отверстия направлении. Положение рейки, и, соответственно, положение образца, а также их перемещения контролируются шаговым двигателем, управляемым при помощи TTL импульсов, создаваемых консолью ЯМР спектрометра. TTL-импульсы синхронизованы с импульсной последовательностью ЯМР эксперимента. Система перемещения образца совместима в использовании со стандартными, коммерчески доступными ЯМР спектрометрами фирмы Bruker, в том числе стандартными ЯМР датчиками. При выполнении работы преимущественно

использовался широкополосный датчик ВВО, позволяющий проводить эксперименты с приложением резонансных РЧ импульсов по протонам и X-ядру ($X = {}^{13}\text{C}, {}^{15}\text{N}, {}^{31}\text{P}, \dots$).

Перемещением образца вдоль тёплого отверстия криомагнита спектрометра можно достичь напряжённости поля в диапазоне от 1 мТл до 9.4 Тл. Для расширения доступного диапазона до ультраслабых магнитных полей, над магнитом ЯМР спектрометра соосно с тёплым отверстием криомагнита установлен многослойный магнитный экран, выполненный в форме цилиндра из магнито-мягкого сплава – листового пермаллоя 79НМ (толщина листа 0.5 мм). Внутри магнитного экрана установлен набор катушек, позволяющий контролировать однородность магнитного поля вдоль оси магнитного экрана, а также две пары катушек Гельмгольца для управления величиной магнитного поля внутри магнитного экрана. Ещё две пары катушек Гельмгольца могут создавать поперечное поле вдоль перпендикулярных к оси магнитного экрана осей X и Y, расположенных перпендикулярно друг к другу. Внутри магнитного экрана

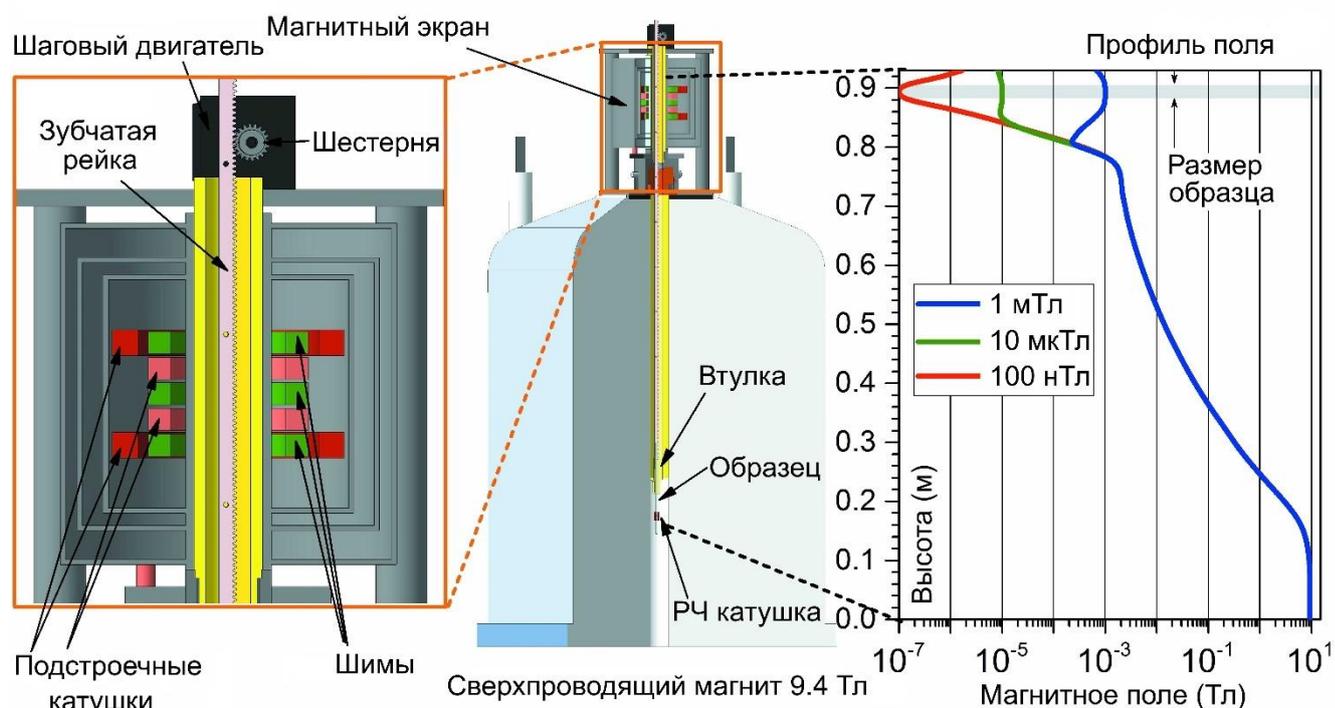


Рисунок 4. Схема установки ЯМР с быстрым переключением магнитного поля в ультрашироком диапазоне [75]. На вставке слева в увеличенном масштабе показан разрез магнитного экрана. На графике справа линиями показана зависимость напряжённости магнитного поля от положения образца при разных значениях поля, установленного электромагнитными катушками внутри магнитного экрана.

возможно создание магнитного поля вдоль оси экрана с амплитудой от 5 нТл до 2 мТл [75].

2.1.1 Адиабатическое и неадиабатическое переключение поля в ZULF режим

Переключение поля от $B_0 = 9.4$ Тл до ультраслабого B_{UL} можно проводить двумя способами (см. рис.5): 1) в одну стадию - перемещение образца из ЯМР датчика (в поле B_0) внутрь магнитного экрана с предварительно установленным ультраслабым полем B_{UL} ; 2) в две стадии - перемещение образца из ЯМР датчика внутрь магнитного экрана с предварительно установленным током в двух электромагнитных катушках Гельмгольца суммарным промежуточным полем $B_L = B_{Z1} + B_{UL} = 2 \dots 0.05$ мТл, и последующим выключением катушки Гельмгольца, создающей основное поле $B_{Z1} \gg B_{UL}$.

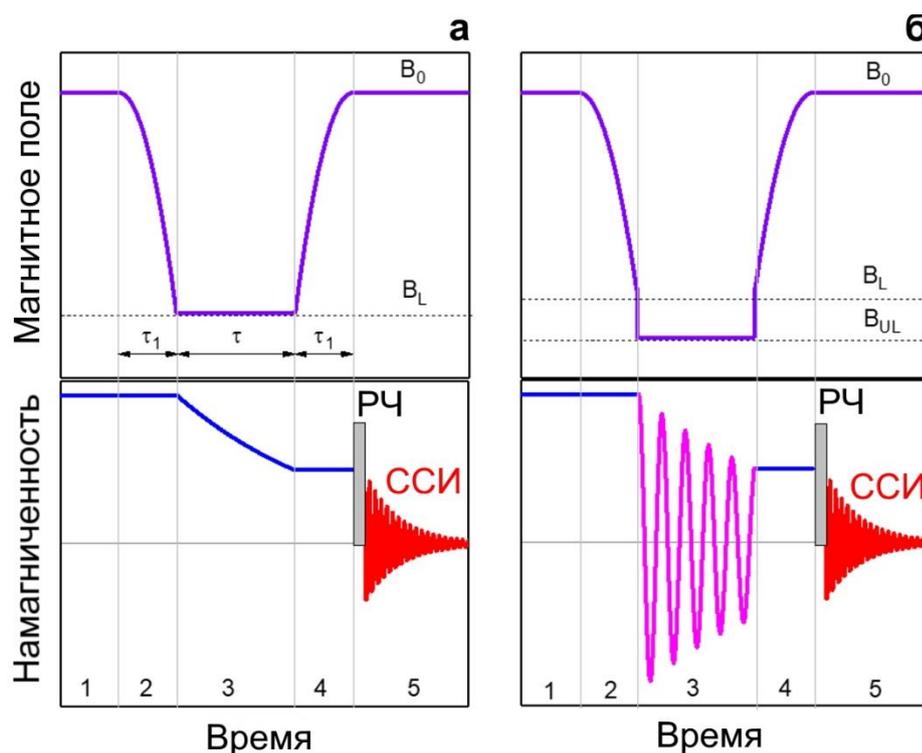


Рисунок 5. Способы переключения напряжённости магнитного поля: **а** – в одну стадию, **б** – в две стадии. Затухающие осцилляции на этапе 3 на правом нижнем графике соответствуют осцилляции Z-компоненты ($\vec{B}_0 \parallel \vec{Z}$) намагниченности гетероядерной спиновой системы в результате эволюции нуль-квантовой когерентности за счёт разности гиромагнитных отношений ядер.

Первый способ обычно используется для реализации экспериментов, требующих адиабатического (медленного) переключения поля, например,

создания долгоживущих состояний в гетероядерной спиновой системе. Для некоторых спиновых систем в этих экспериментах возникают трудности с удовлетворением условию адиабатического переключения поля, поскольку вблизи от входа внутрь магнитного экрана напряжённость поля очень быстро меняется на коротком расстоянии. Поэтому, при прохождении этой области пространства возможен срыв адиабатичности, наблюдаемый в виде биений интенсивности ЯМР сигналов при развёртке по времени пребывания образца внутри магнитного экрана. Для борьбы с нежелательным срывом адиабатичности применяется модифицированный способ перемещения образца, позволяющий снизить скорость прохождения области вблизи входа в магнитный экран.

Второй способ обычно используется для реализации экспериментов, требующих неадиабатического (быстрого) переключения поля в гетероядерных спиновых системах – создания гетероядерных когерентностей. Разрыв цепи питания катушки Гельмгольца, создающей основной вклад в промежуточное поле $B_L = B_{Z1} + B_{UL} = 2 \dots 0.05$ мТл при помощи быстродействующего герконового реле происходит за время менее 0.2 мс, что позволяет возбуждать нуль-квантовые когерентности в парах спинов гетероядер I и S , связанных скалярным взаимодействием J_{IS} амплитудой до ~ 1 кГц.

2.1.2 Метод измерения полевой зависимости эффекта ХПЯ

Для облучения раствора в стандартной 5 мм ЯМР ампуле использовались коммерчески доступные светодиоды (LED) фирмы Shenzhen Chanzon Technology Co., Ltd. с одним чипом (потребляемая мощность 3 Вт) и пластиковой полусферической линзой, генерирующие излучение на длинах волн 520 ± 5 нм и 403 ± 5 нм. Мощность светового потока при максимально допустимом потребляемом токе составляла 3.8 мВт для 520 нм LED и 3.7 мВт для 403 нм LED. Электрический ток к светодиоду подводится по тонким проводам, закреплённым на зубчатой рейке. Управление светодиодом осуществляется TTL импульсами из ЯМР консоли, синхронизованными с импульсной программой, посредством

замыкания/размыкания герконового реле электрической цепи, содержащей светодиод.

Исследуемый раствор (~ 350 мкл) помещается в стандартную ЯМР ампулу из боросиликатного стекла. Излучение доставляется в раствор через 4-мм кварцевый световод с полированными торцами, вставленный в ампулу до касания с поверхностью раствора (см. рис.6а). Кварцевый световод фиксируется в ампуле при помощи втулки, имеющей посадочные места для светодиода и для радиатора, охлаждающего светодиод. Длина световода была подобрана таким образом, чтобы в положении образца для записи ЯМР спектра, опущенный в раствор торец световода находился точно над РЧ катушкой X-контура датчика ВВО. Протокол эксперимента по измерению полевой зависимости ХПЯ приведён на рис.6б.

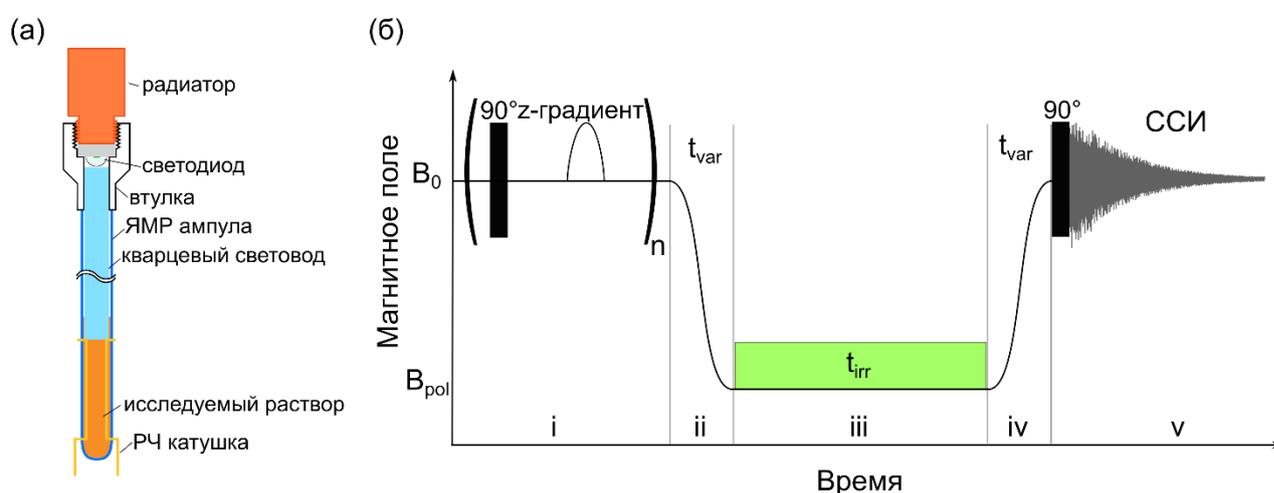


Рисунок 6. (а) Образец для проведения эксперимента ХПЯ с переключением поля, в собранном виде. (б) Протокол эксперимента ХПЯ с переключением поля: (i) макроскопическая намагничённость в поле B_0 подавляется многократным применением цикла из 90° РЧ импульса и Z-градиента магнитного поля; (ii) перемещение образца в позицию с напряжённостью поля B_L за время t_{var} ; (iii) облучение образца светодиодом в течение фиксированного времени t_{irr} ; (iv) перемещение образца в позицию для регистрации ЯМР спектра в поле B_0 ; (v) запись сигнала ССИ после приложения 90° РЧ импульса.

2.2 ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ СОЕДИНЕНИЯ И ПРИГОТОВЛЕНИЕ ОБРАЗЦОВ

В экспериментах по исследованию долгоживущих состояний в гетероядерных спиновых системах использовался образец, представляющий собой смесь равных объемов метилпропиолата (CAS No. 922-67-8, Sigma Aldrich) и дейтерированного ацетона (99.9%, Deutero-GmbH), запаиваемую под вакуумом после трёх циклов «заморозка-откачка-оттаивание» для удаления растворённых газов. Содержание магнитных изотопов в метилпропиолате было естественным, концентрация однократно меченых ^{13}C изотопомеров метилпропиолата (см. рис.9) в растворе – около 70 ммоль.

В экспериментах по косвенному детектированию ЯМР спектров в нулевом магнитном поле и корреляции этих спектров с сигналами ЯМР в сильном поле использовалась смесь веществ: метанол (ОСЧ, Химмед), 95.5% этанол (ОАО «Кемеровская фармацевтическая фабрика»), ледяная уксусная кислота (Химмед), ацетонитрил (ОСЧ, Химмед), а также DMSO-d₆ (99.9% Deutero GmbH), с естественным содержанием изотопов (кроме DMSO-d₆). Смесь помещалась в стандартную ЯМР ампулу из боросиликатного стекла и запечатывалась пластиковой крышкой, которая затем фиксировалась парафиновой плёнкой.

Эксперименты по полной корреляции химических сдвигов ЯМР сигналов в результате изотропного смешивания в ультраслабом магнитном поле (ZULF-TOCSY) проводились с 0.1 моль/л растворами 99.8% $^{13}\text{C},^{15}\text{N}$ –обогащёнными по всем положениям аминокислотами L-лейцин (Sigma Aldrich, product no. 608068) и L-лизин (Sigma Aldrich, product no. 608041), в 99.9% D₂O (Deutero GmbH); в приготовленные растворы добавляли 40% NaOD в D₂O (Sigma Aldrich) для получения pH 5.9 (лейцин) и 5.7 (лизин). Питательная среда ISOGRO (MERCK) [108] состоит из неселективно 98% $^{13}\text{C},^{15}\text{N}$ обогащённых низкомолекулярных биологически-активных соединений: мономеров аминокислот и коротких пептидов (65% сухой массы), глюкозы (2% массы), и неорганических солей металлов (30% массы). После добавления к избытку сухой смеси ISOGRO дейтерированной воды, получившийся насыщенный раствор был отделён от осадка. Добавлением 40% раствора NaOD в D₂O значение водородного показателя

насыщенного раствора ISOGRO было доведено до pH 6.5. Калибровка датчика pH проводилась в протонной воде. Полученные растворы помещались в стандартную ЯМР ампулу из боросиликатного стекла и запечатывались пластиковой крышкой, которая затем фиксировалась парафиновой плёнкой.

Образец для экспериментов с последовательным отнесением сигналов в ^1H и ^{13}C ЯМР спектрах пептидов был приготовлен следующим образом: 33.5 мг Вос-мет-энкефалина (Bachem, 4 000 009, структура молекулы показана на рис.26) были растворены в 600 мкл дейтерированной воды (Deutero GmbH), после чего добавлением нескольких микролитров 40% раствора NaOD в D_2O (Sigma Aldrich) был получен водородный показатель раствора pH 10.9; концентрация пептида составила 83 ммоль. Полученный раствор был помещён в стандартную ЯМР ампулу из боросиликатного стекла и запечатан пластиковой крышкой, которая затем фиксировалась парафиновой плёнкой.

Диады донор-линкер-акцептор (D-B-A) состояли из триариламина (TAA) в качестве донора электрона (D), нафталиндиимида (NDI) в качестве акцептора электрона (A) и *мета*-конъюгированного диэтинилбензольного фрагмента в качестве линкера, в общем виде обозначаемого B, с различными заместителями X в *пара*-положении бензольного кольца. Эти вещества представляют интерес для разработки органических фотоэлектрических преобразователей. Диады D-B-A были синтезированы в лаборатории профессора К. Ламберта (Вюрцбургский университет имени Юлиуса и Максимилиана, Германия). В центральном бензольном кольце линкера в *пара*-позиции введены две одинаковые замещающие группы одного из 4-х типов - CN, Cl, OMe, Me. Для обозначения конкретных исследуемых диад вместо B использовались символы, описывающие именно эти замещающие группы, например, DCIA. Общая структура диад приведена на рис.7.

Флавинадениндинуклеотид (ФАД) любезно предоставил профессор университета г. Сайтама К. Маеда (Япония). Структура молекулы показана на рис.8. Дейтерированная вода (99.9%) была приобретена у ООО «Астрахим» (г. Санкт-Петербург), 99.5% дейтерированный толуол (DLM-5-PK) приобретён у Cambridge Isotope Laboratories, Inc.

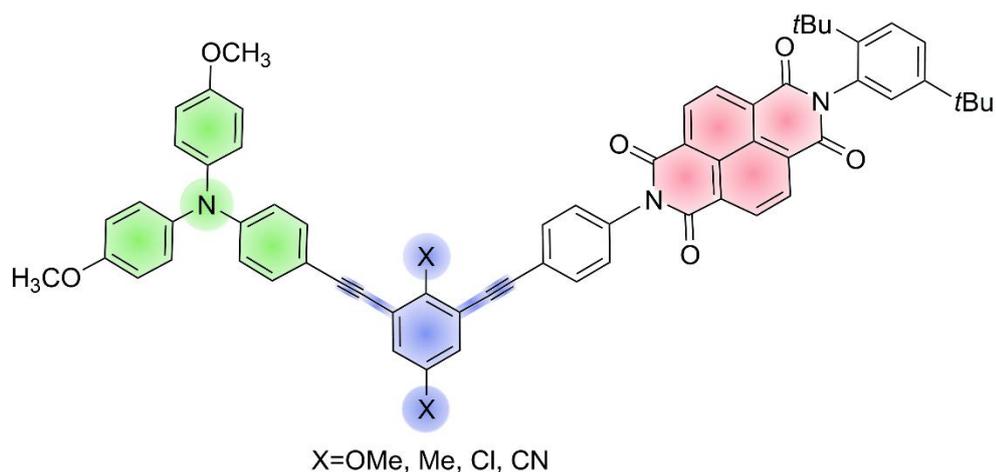


Рисунок 7. Общая структура молекулы диады D-X-A, где X-это заместители (CN, Cl, Me, OMe) в *para*-положении связывающего ТАА и NDI фрагменты бензольного кольца.

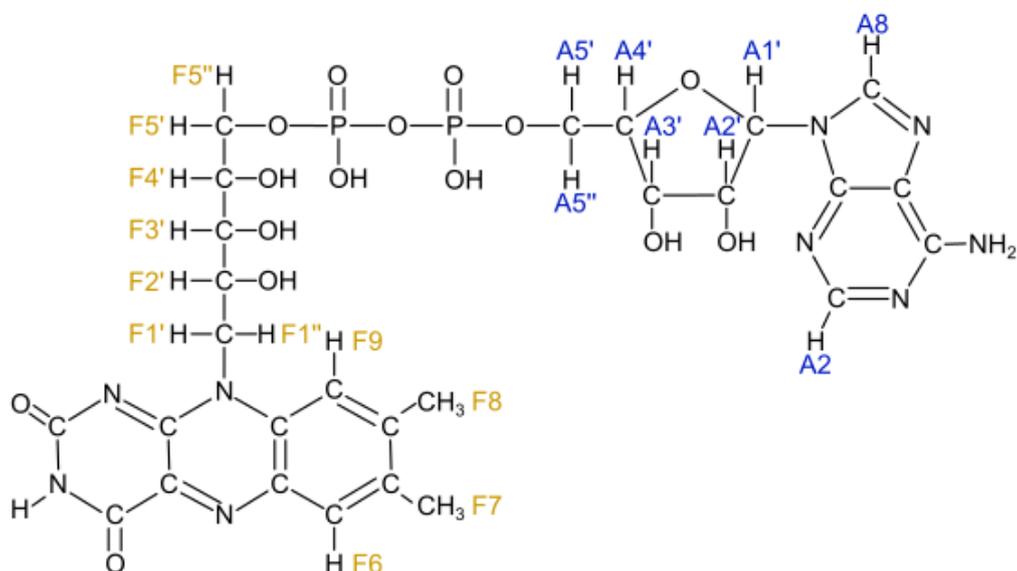


Рисунок 8. Структура молекулы флавинадениндуклеотида.

Важным параметром в экспериментах ХПЯ с переключением поля является оптическая плотность образца OD:

$$OD = \log_{10} \frac{\Phi_e^i}{\Phi_e^t} \quad (14)$$

где Φ_e^i и Φ_e^t – интенсивности оптического излучения до и после его прохождения заданного пути в растворе. Оптические плотности исследуемых растворов измерялись при помощи спектрофотометра Agilent 8453. Для записи спектра ЯМР продуктов фотохимических превращений необходимо, чтобы: 1) эти продукты находились внутри РЧ катушки датчика во время приложения РЧ импульса и

регистрации сигнала спада свободной индукции (ССИ); и 2) произведение поляризации ядер продуктов на их концентрацию должно быть достаточным для детектирования ССИ. Вклад в сигнал ССИ дают спины той части исследуемого образца, которая находится внутри РЧ катушки датчика. При проведении экспериментов при температуре, близкой к комнатной, конвективные потоки в растворе недостаточно интенсивные для равномерного распределения продуктов фотоиндуцированных химических реакций по объему образца за характерное время эксперимента (~3-10 секунд). Опыт показывает, что для фотостабильных веществ (то есть веществ, расход которых в фотоиндуцированных химических реакциях под действием облучения LED в течение часа менее 5%) оптимальным с точки зрения отношения сигнал/шум и спектрального разрешения получаемых ЯМР спектров является оптическая плотность $OD \sim 1$ при прохождении 1 см раствора. Высота РЧ катушки составляет около 25 мм, т.е. при использовании изображённой на рис.6 сборки, в части образца, попадающей внутрь РЧ катушки, при оптической плотности $OD=1$ (на 1 см) поглощается 92% падающего потока излучения. При изучении ХПЯ менее фотостабильных веществ более удобным оказывается использование более концентрированных растворов с оптической плотностью $A=2-3$ (на 1 см), поскольку в этом случае можно реже заменять исследуемый раствор на свежий. Однако, в этом случае снижается спектральное разрешение ЯМР спектров из-за неоднородности внешнего магнитного поля B_0 , вызванной различием коэффициентов магнитной восприимчивости кварца и растворителя. Концентрации и оптические плотности растворов исследованных веществ приведены в табл.1.

Таблица 1. Концентрации и оптические плотности растворов исследованных веществ: ФАД ($\lambda=520$ нм) и диад D-X-A ($\lambda=403$ нм).

Вещество	Концентрация, 10^{-3} моль/л		Оптическая плотность, на 1 см	
	^1H ХПЯ	^{13}C ХПЯ	^1H ХПЯ	^{13}C ХПЯ
ФАД	4.2	-	1	-
DCNA	0.1	0.14	1.7	2.3
DCIA	0.07	0.13	1.7	3.1
DMeA	0.2	0.2	2.0	2.0
DOMeA	0.15	0.15	2.0	2.0

ГЛАВА 3: РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

3.1 ДОЛГОЖИВУЩИЕ СОСТОЯНИЯ В ГЕТЕРОЯДЕРНЫХ СПИНОВЫХ СИСТЕМАХ

Долгоживущие состояния в ультраслабом магнитном поле были зарегистрированы в ^{13}C - ^1H и ^{13}C - $^1\text{H}_3$ фрагментах метилпропиолата [75, 109]. Образец для исследований представлял собой смесь равных объемов метилпропиолата и дейтерированного ацетона. При естественном содержании изотопов ^{13}C в метилпропиолате только 4.4 % молекул метилпропиолата в растворе содержали по одному ядру углерод-13, а остальные 95.6% молекул не представляли значимого интереса. спектры ^1H (400 МГц) и ^{13}C (100 МГц) ЯМР образца показаны на рис.9. В протонном спектре видны ^{13}C -сателлиты трех (из четырёх) ^{13}C -изотопомеров метилпропиолата, расположенные симметрично относительно интенсивных сигналов, соответствующих молекулам метилпропиолата, не содержащим атом углерод-13. В ^{13}C ЯМР спектре наблюдались изолированные сигналы всех ^{13}C -изотопомеров: дублеты изотопомеров C1 и C2, дублет кватретов изотопомера C3 и кватрет изотопомера C4.

В ультра-широком диапазоне магнитных полей от 100 нТл до 9.4 Тл были измерены полевые зависимости T_1 -релаксации (дисперсия ядерной спиновой релаксации, англ. nuclear magnetic relaxation dispersion, NMRD) протонов и углеродов изотопомеров C1, и C4, а также полевая зависимость T_1 -релаксации углерода-13 изотопомеров C2 и C3 (см. рис.10). Время T_1 -релаксации углерода-13 для изотопомеров C2 и C3 в поле выше 1 Тл сокращалось обратно пропорционально квадрату индукции поля. Это указывает на то, что основным механизмом релаксации углерода-13 в этих положениях является модуляция локального поля, воздействующего на ядерный спин, из-за анизотропии тензора химического экранирования (англ. chemical shift anisotropy, CSA). При ненулевой анизотропии тензора химического экранирования вращательная диффузия

молекулы в растворе, помещённом в однородное магнитное поле, приводит к модуляции локального магнитного поля, взаимодействующего со спином экранируемого ядра, причём амплитуда модуляции прямо пропорциональна амплитуде однородного поля. Случайные флуктуации локального магнитного поля вызывают релаксацию ядерного спина, причём скорость релаксации пропорциональна квадрату индукции внешнего поля. В поле от 10 мкТл до 1 Тл времена T_1 -релаксации углерода-13 в положениях C2 и C3 максимальные и не зависят от величины поля. В ультраслабом поле менее 10 мкТл происходит переход из режима слабой связи спинов ядер протонов и углерода-13 в режим сильной связи, сопровождающийся уменьшением времени T_1 -релаксации углерода-13. Поскольку в ультраслабом поле релаксационные переходы

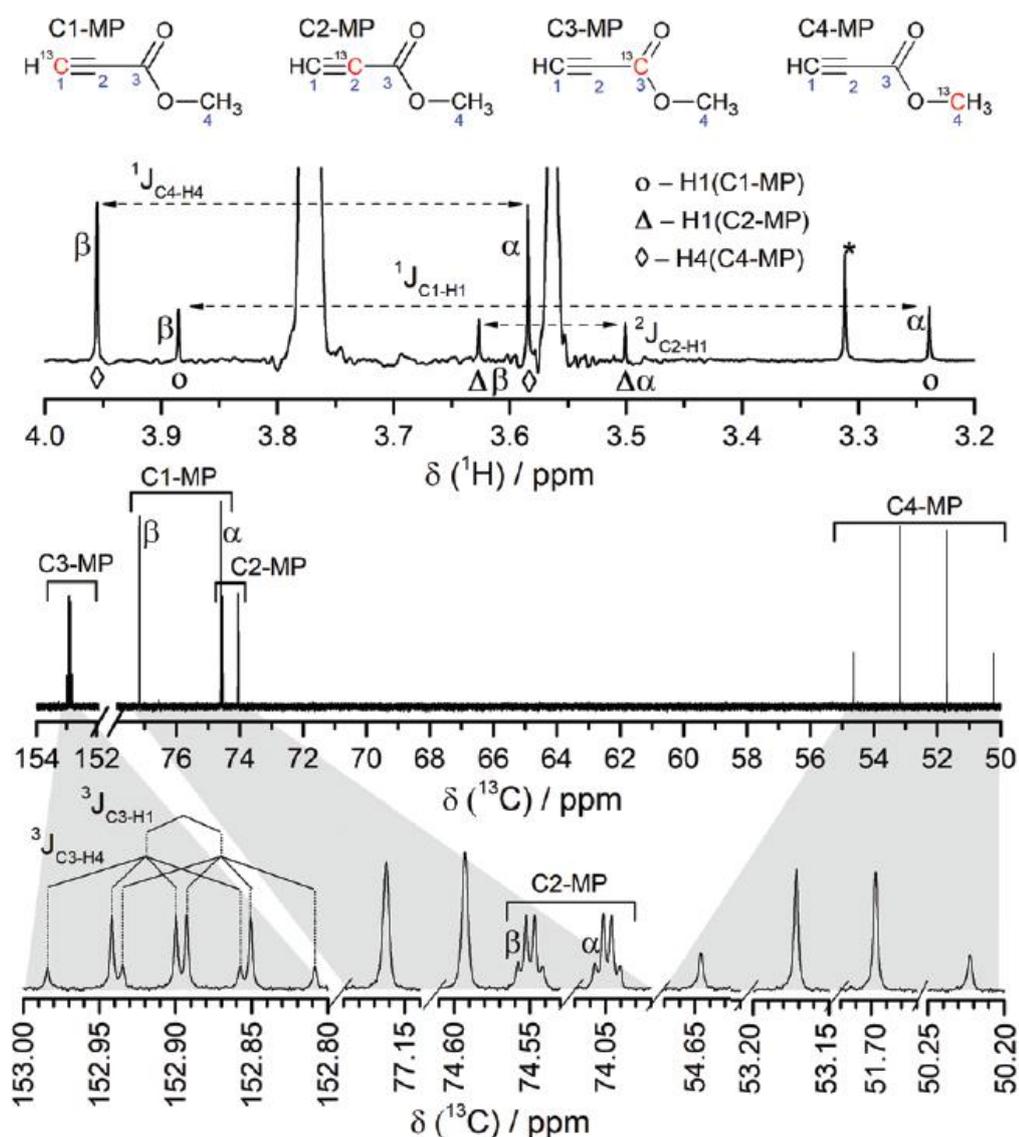


Рисунок 9. 400 МГц ¹H ЯМР спектр (сверху) и фрагмент 100 МГц ¹³C ЯМР спектр (снизу) смеси метилпропиолята (MP) и ацетона-d₆.

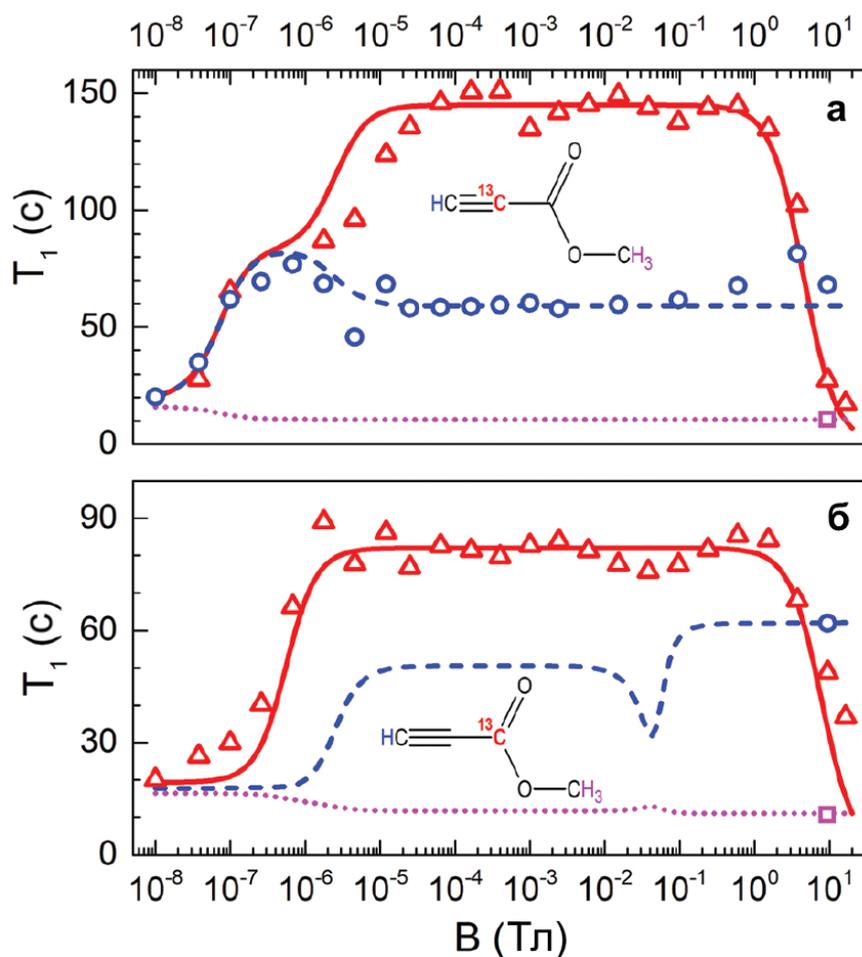


Рисунок 10. Красные треугольники, синие окружности и фиолетовые квадраты - зависимость времени T_1 -релаксации спинов ядер углерода-13 (а-С2, б - С3), алкильного и метильного протонов от магнитного поля. Линиями показаны рассчитанные полевые зависимости T_1 -релаксации спинов этих ядер, полученные в программе iRelax [110] с учётом эффектов сильной связи спинов ядер, влияния флуктуаций локального поля за счет модуляции анизотропии тензора химического экранирования, и флуктуирующего локального поля.

происходят между смешанными спиновыми состояниями углерода-13 и протонов, их скорости релаксации сравниваются тем больше, чем лучше выполняется условие сильной связи, т.е. при уменьшении индукции поля.

Релаксация протонов и углерода-13 в изомерах С1 и С4 существенно отличается от таковых в изомерах С2 и С3. Поскольку в изомерах С1 и С4 протоны и углерод-13 расположены гораздо ближе, то основной вклад в скорость их релаксации оказывает диполь-дипольное взаимодействие магнитных моментов этих ядер. Известно, что диполь-дипольное взаимодействие двух спинов-1/2 вызывает не только релаксационные переходы с переворотом одного спина W_1 , но и переходы с одновременным переворотом спинов со скоростями W_0 для перехода без изменения проекции суммарного спина, и W_2 для перехода, изменяющего

проекцию суммарного спина на $2\hbar$. Разность скоростей переходов $W_2 - W_0$ ответственна за эффект кросс-релаксации – зависимости скорости релаксации спина от спинового состояния партнёра. Этот же механизм обуславливает ядерно-ядерный эффект Оверхаузера [11]. Кинетики кросс-релаксации описываются уравнениями Соломона:

$$\frac{d\mathbf{M}}{dt} = \hat{R}(\mathbf{M} - \mathbf{M}_{eq}); \mathbf{M} = \begin{pmatrix} S_z \\ I_z \end{pmatrix}, \mathbf{M}_{eq} = \begin{pmatrix} S_{eq} \\ I_{eq} \end{pmatrix}; \hat{R} = \begin{pmatrix} -R_1 & -\sigma \\ -\sigma & -R_1 \end{pmatrix}. \quad (15)$$

где $R_1 = \rho_I = \rho_S$ – скорость релаксации, а σ – скорость кросс-релаксации, которые для пары спинов-1/2 в режиме предельного сужения $2\pi\nu \cdot \tau_c \ll 1$ равны $\sigma = W_2 - W_0 = \frac{6\pi}{5} b_{IS}^2 J(0) - \frac{\pi}{5} b_{IS}^2 J(0) = b_{IS}^2 J(0)$ и $R_1 = \rho_I = \rho_S = W_0 + 2W_{1I(S)} + W_0 = \frac{\pi}{5} b_{IS}^2 J(0) + 2 \cdot \frac{3\pi}{10} b_{IS}^2 J(0) + \frac{6\pi}{5} b_{IS}^2 J(0) = 2b_{IS}^2 J(0)$ [111]. Собственные значения матрицы уравнения кросс-релаксации равны $R_1 \pm \sigma$, или обычной $\sigma = b_{IS}^2 J(0)$ и утроенной скоростям кросс-релаксации.

Пара спинов $^1\text{H}-^{13}\text{C}$ в изотопере C1 метилпропиолата практически полностью изолирована от метильных протонов, и представляет собой чистую систему двух спинов-1/2. Кинетики релаксации компонент мультиплета спинов $^1\text{H}-^{13}\text{C}$ в режиме слабой и сильной связи показаны на рис.11. Вследствие эффекта кросс-релаксации спинов протона и углерода-13 кинетики релаксации имеют немонотонный вид и описываются суммой двух экспоненциальных функций. В то время как в режиме слабой связи соотношение скоростей релаксации очень близко к предсказываемому теоретически (σ и 3σ , 5.8 секунд и 18 секунд в поле $B=3.7$ Тл), в режиме сильной связи разные компоненты мультиплетов в ^1H и ^{13}C ЯМР спектров релаксируют с разной скоростью. Это связано с изменением собственных функций спиновой системы при переходе в режим сильной связи. Полевая зависимость постоянных времени, полученных из аппроксимации кинетики релаксации биэкспоненциальной функцией, показана на рис.12. В ультраслабом поле формируется долгоживущее синглетное состояние спинов $^1\text{H}-^{13}\text{C}$, время релаксации которого (90 секунд) в 5 раз превышает время медленной компоненты кросс-релаксации в режиме слабой связи.

Для конверсии разницы населённостей состояний сильного поля в гетероядерное долгоживущие состояние, переключение поля должно

производиться адиабатически. Для пары спинов ^{13}C - ^1H изотомера С1 с константой скалярного взаимодействия $J=258.5$ Гц условие адиабатичности выполняется лучше, чем для изотомера С4, у которого константа скалярного взаимодействия $J=148.4$ Гц в метильной группе ^{13}C - $^1\text{H}_3$. Поэтому эффект формирования долгоживущего гетероядерного состояния проявляется менее явно, чем для С1 изотомера. Так же, как и в предыдущем случае, из-за эффекта кросс-релаксации кинетики релаксации протонов и углерода-13 С4 изотомера описываются биэкспонентами (см. рис.13).

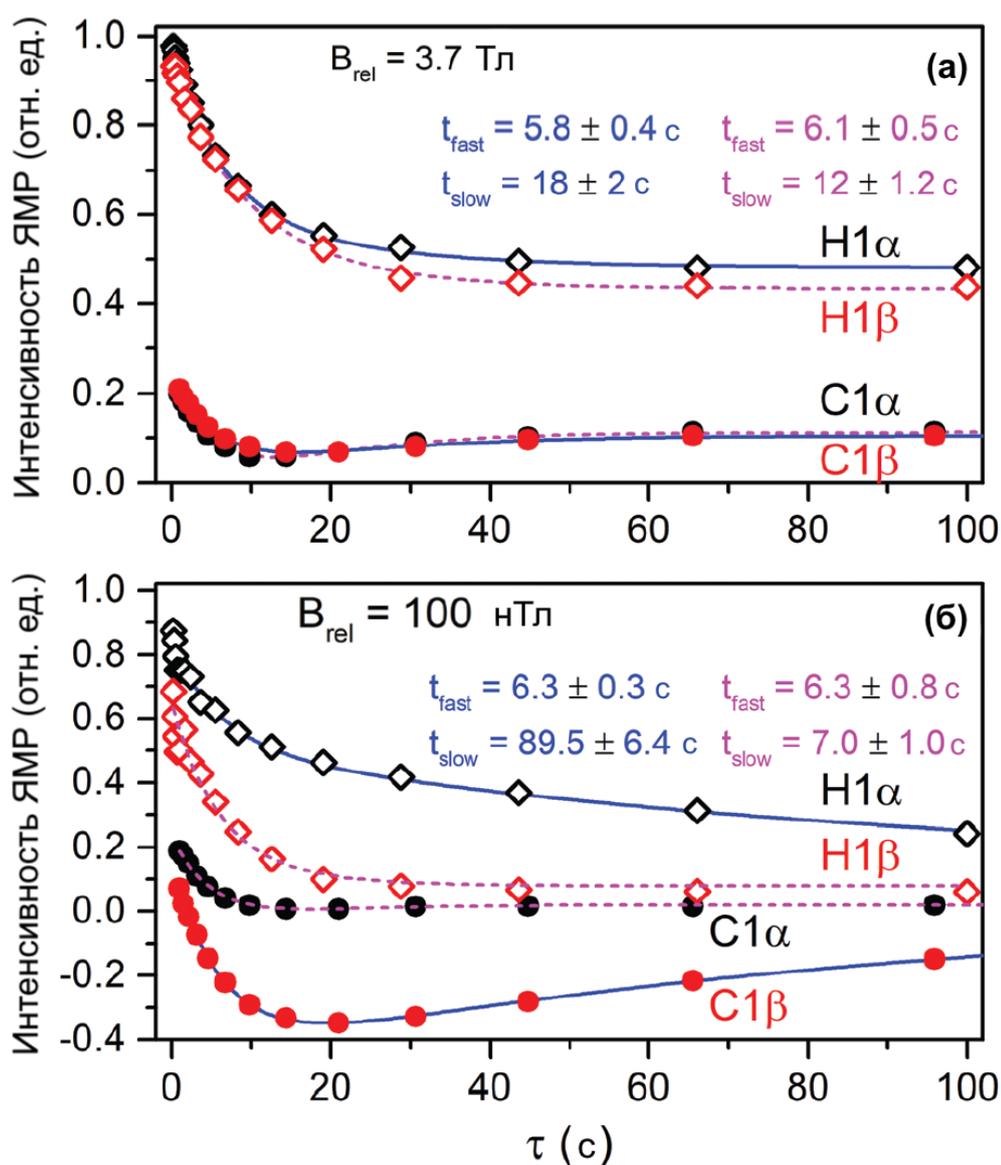


Рисунок 11. Кинетики релаксации компонент мультиплета С1 изотомера метилпропиолата (а) – в режиме слабой связи в сильном поле $B=3.7$ Тл, и (б) – в режиме сильной связи в ультраслабом поле $B=100$ нТл.

Формирование долгоживущего состояния в ультраслабом магнитном поле выражается в различной скорости релаксации компонент ^{13}C мультиплета изотомера С4, поскольку при адиабатическом переключении магнитного поля долгоживущие состояния коррелируют лишь с частью состояний сильного поля.

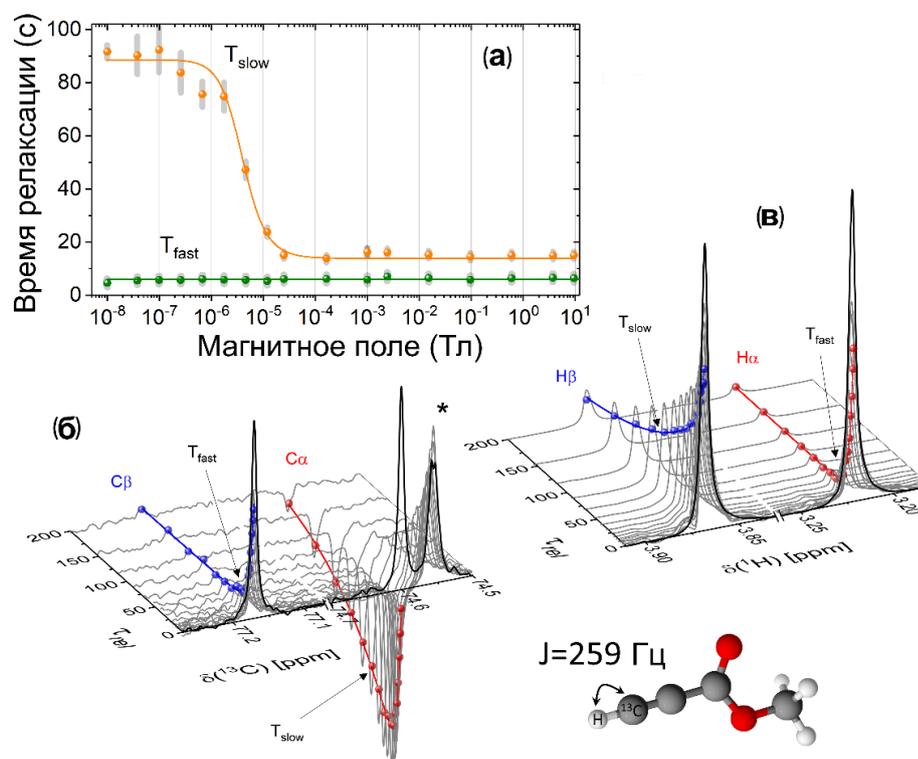


Рисунок 12. (а) Зависимость постоянных времени релаксации $^1\text{H}\alpha$ и $^{13}\text{C}\beta$ компонент мультиплетов в ^{13}C (б) и ^1H (в) ЯМР спектрах С1-изотомера метилпропиолата, от магнитного поля.

В ультраслабом поле Гамильтониан метильной группы $^{13}\text{C}-^1\text{H}_3$ изотомера С4 описывается только скалярными взаимодействиями внутри метильной группы. С этим гамильтонианом коммутирует оператор суммарного спина протонов $\hat{I} = \hat{I}_1 + \hat{I}_2 + \hat{I}_3$, который по правилу сложения моментов принимает значения $I = 1/2$ и $I = 3/2$. Кроме разницы в значении суммарного спина, пространственная симметрии состояний с $I = 1/2$ и $I = 3/2$ относятся к различным неприводимым представлениям точечной группы C_{3v} : состояния с $I = 1/2$ преобразуются по неприводимому представлению E , а состояния с $I = 3/2$ – по неприводимому представлению A [54, 112].

Энергии собственных состояний протон-протонного скалярного взаимодействия метильной группы $^{13}\text{C}-^1\text{H}_3$ изотомера С4 равны $\mathcal{E}_E = -\frac{3}{4}J_{\text{HH}}$,

$\varepsilon_A = \frac{3}{4}J_{HH}$ для состояний $I = 1/2$ и состояний $I = 3/2$. Оставшиеся члены Гамильтониана метильной группы $^{13}\text{C}-^1\text{H}_3$ изотомера С4 описывают скалярное взаимодействие спинов ядер углерода-13 и протонов:

$$\mathcal{H}_{CH} = J_{CH}\{(\mathbf{S} \cdot \mathbf{I}_1) + (\mathbf{S} \cdot \mathbf{I}_2) + (\mathbf{S} \cdot \mathbf{I}_3)\} = J_{CH}(\mathbf{S} \cdot \mathbf{I}) = \frac{J_{CH}}{2}(\mathbf{F}^2 - \mathbf{S}^2 - \mathbf{I}^2)$$

которое можно преобразовать, используя оператор полного спина $\mathbf{F} = \mathbf{S} + \mathbf{I}$ метильной группы $^{13}\text{C}-^1\text{H}_3$.

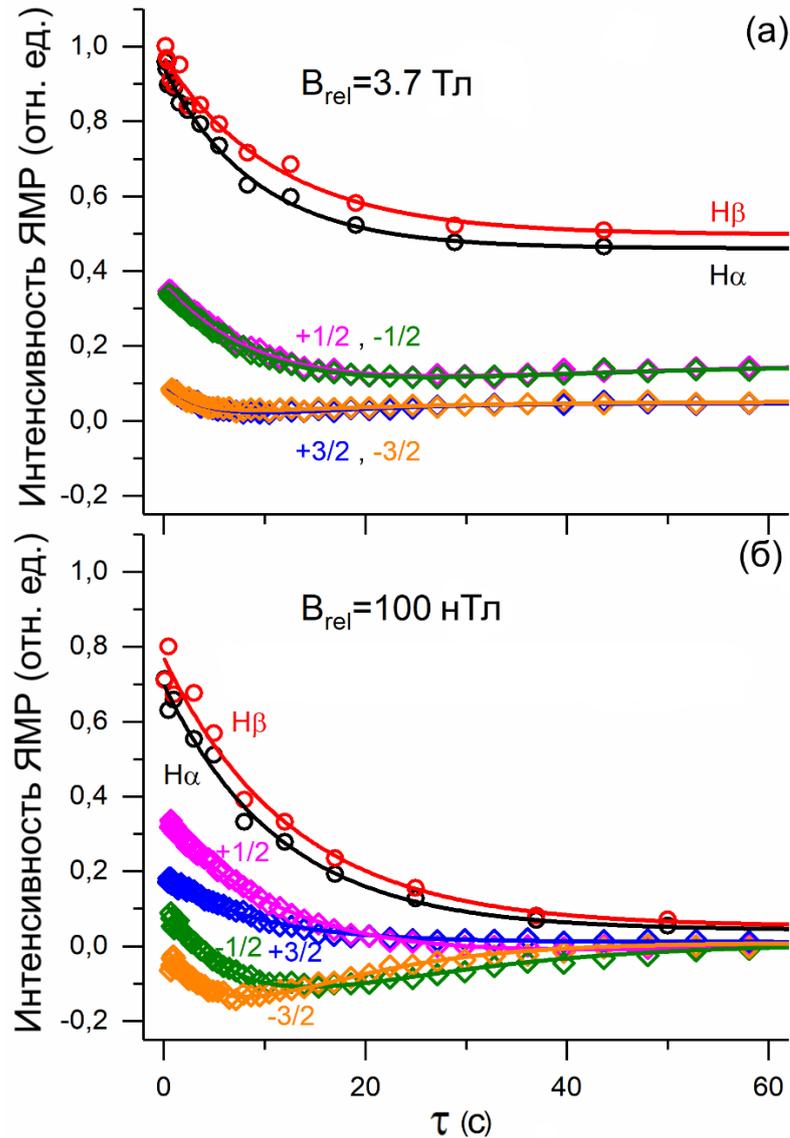


Рисунок 13. Кинетики релаксации компонент мультиплетов в ^1H (черный, красный) и ^{13}C (зелёный, синий, фиолетовый, жёлтый) ЯМР спектрах изотомера С4 в режиме слабой (а) и сильной (б) связи.

Собственные значения оператора полного спина \mathbf{F} равны по правилу сложения моментов 0, 1, и 2. Волновые функции метильной группы $^{13}\text{C}-^1\text{H}_3$ являются собственными функциями оператора полного спина с собственным

значением F и оператора суммарного спина протонов с собственным значением I . Состояния с разным суммарным спином протонов преобразуются по разным неприводимым представлениям, поэтому в записи волновых функций $|E, F\rangle$ и $|A, F\rangle$ удобно указывать, по какому неприводимому представлению она преобразуется под действием операций симметрии точечной группы C_{3v} . В результате, спектр Гамильтониана метильной группы $^{13}\text{C}-^1\text{H}_3$ в ультраслабом магнитном поле состоит из следующих собственных значений:

$$\begin{aligned} \varepsilon_{E,0} &= -\frac{3}{4}J_{CH} - \frac{3}{4}J_{HH}, & \varepsilon_{E,1} &= \frac{1}{4}J_{CH} - \frac{3}{4}J_{HH}, \\ \varepsilon_{A,1} &= -\frac{5}{4}J_{CH} + \frac{3}{4}J_{HH}, & \varepsilon_{A,2} &= \frac{3}{4}J_{CH} + \frac{3}{4}J_{HH} \end{aligned}$$

16 состояний метильной группы $^{13}\text{C}-^1\text{H}_3$ в ультраслабом магнитном поле распределяются по четырём группам вырожденных состояний: $|A, 1\rangle$ - 3 состояния, $|E, 0\rangle$ - 2 состояния, $|E, 1\rangle$ - 6 состояний и $|A, 2\rangle$ - 5 состояний.

Разумно предположить, что релаксационные переходы между состояниями с разной точечной симметрией и разным полным моментом происходят медленно, в то время как релаксационные переходы между вырожденными состояниями в нулевом поле, наоборот, происходят с большой скоростью. Для описания наблюдаемого спектрального паттерна долгоживущего состояния метильной группы $^{13}\text{C}-^1\text{H}_3$ C4 изомера метилопропиолата в ультраслабом поле, были рассчитаны населённости состояний сильного поля после релаксации в ультраслабом поле. Была численно рассчитана матрица плотности метильной группы $^{13}\text{C}-^1\text{H}_3$ в ультраслабом поле после адиабатического переключения поля в режим ZULF, при старте с термически равновесных населённостей Зеемановых состояний в поле B_0 , без учёта релаксации спинов во время переключения поля. Полученные населённости вырожденных собственных состояний метильной группы $^{13}\text{C}-^1\text{H}_3$ в ультраслабом поле затем усреднялись внутри группы вырожденных уровней, после чего численно рассчитывались населённости состояний в сильном магнитном поле в результате обратного адиабатического переключения поля. По аналогии с рассмотрением для $^{13}\text{C}-^1\text{H}_3$ группы, был сделан расчёт и для пары $^{13}\text{C}-^1\text{H}$; по разности населённостей были рассчитаны соответствующие ^{13}C ЯМР спектры, результаты расчётов и наблюдаемый

экспериментально ^{13}C ЯМР спектр показаны на рис.14. Рассчитанные ^{13}C ЯМР спектры групп ^{13}C - ^1H и ^{13}C - $^1\text{H}_3$ метилпропиолата после двух адиабатических переключений поля $B_0 \rightarrow B_{UL} \rightarrow B_0$ и релаксации в ультраслабом поле неплохо согласуются с наблюдаемыми.

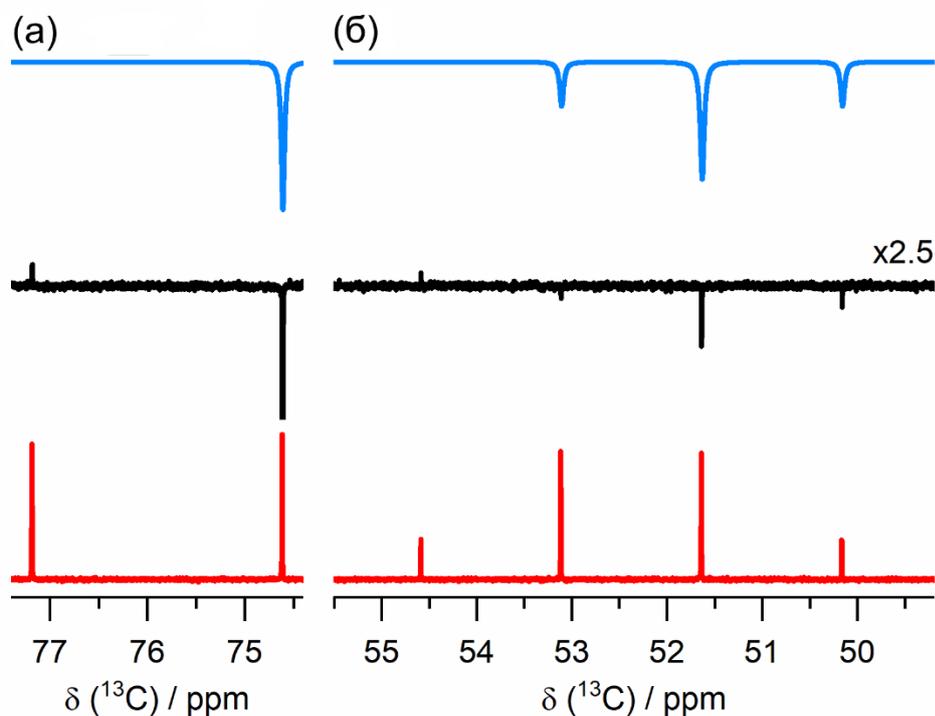


Рисунок 14. ^{13}C ЯМР спектры ^{13}C - ^1H (а) и ^{13}C - $^1\text{H}_3$ (б) групп С1 и С4 изотопомеров метилпропиолата. Снизу – ЯМР спектр после релаксации в сильном поле $B_0 = 9.4$ Тл, в середине – после релаксации в ультраслабом поле $B_{UL} = 100$ нТл, сверху – рассчитанные ЯМР спектры.

3.2 КВАНТОВЫЕ БИЕНИЯ В ГЕТЕРОЯДЕРНЫХ СПИНОВЫХ СИСТЕМАХ

В результате адиабатического переключения магнитного поля, действующего на вещество в растворе, фрагменты молекулы которого содержат магнитные ядра разных изотопов в положениях с высокой пространственной симметрией, от нескольких Тесла до ультраслабого поля ~ 100 нТл и слабее, возможно спонтанное формирование долгоживущих гетероядерных состояний спинов. Формирование таких состояний в ^{13}C - ^1H и ^{13}C - $^1\text{H}_3$ фрагментах изотопомеров C1 и C4 метилпропиолата обсуждалось в предыдущем разделе.

В разделе 1.1.1 первой главы диссертации обсуждалась эффекты как адиабатического, так и неадиабатического переключения поля. В частности, обсуждалась возможность формирования когерентностей между собственными состояниями системы спинов в ультраслабом поле. Нетрудно аналитически показать на примере простейшей системы двух спинов- $1/2$ I и S , что неадиабатическое переключение магнитного поля, действующего на образец, конвертирует разность поляризаций спинов I и S в нуль-квантовую когерентность между состояниями $|S\rangle$ и $|T_0\rangle$ этих спинов. В данной ситуации не существенно, являются ли гиромангнитные отношения спинов одинаковыми или разными. Необходимыми условиями возбуждения нуль-квантовой когерентности в системе двух спинов- $1/2$ являются: 1) быстрое (неадиабатическое) переключение поля, переводящее спины из режима слабой связи в сильном поле в режим сильной связи в слабом поле, и 2) существование разницы поляризаций рассматриваемых спинов, т.е. неравенства разностей населённостей состояний спинов с проекциями α и β .

В гетероядерной спиновой системе, примерами которой являются ^{13}C - ^1H , ^{13}C - $^1\text{H}_2$, и ^{13}C - $^1\text{H}_3$ группы, для возбуждения когерентных биений между состояниями ультраслабого поля необходимо реализовать неадиабатическое переключение исходного магнитного поля, обычно с индукцией несколько Тесла, в ультраслабое поле с индукцией менее 1 мкТл. Установка на базе 400 МГц ЯМР спектрометра с дополнительным магнитным экраном даёт техническую возможность проведения таких экспериментов [75, 113].

Помимо исследования процессов релаксации в спиновых системах ^{13}C - ^1H и ^{13}C - $^1\text{H}_3$ в ультраслабом поле, образец метилпропиолата использовался и в экспериментах по возбуждению когерентных биений между собственными состояниями гетероядерных спиновых систем в ультраслабом магнитном поле. Переключение поля производилось в 2 этапа (см. рис.5): на первом этапе образец механически помещался в центр магнитного экрана, где при помощи двух электромагнитных катушек Гельмгольца предварительно было установлено магнитное поле в несколько десятков мкТл. После остановки образца, на втором этапе за время $\lesssim 200$ мкс выключался ток в катушке, создающей основное поле, и образец оказывался в ультраслабом поле $B_{UL} = 50 - 100$ нТ. При втором (обратном) переключении магнитного поля все действия производятся в обратном порядке.

При систематическом изменении длительности задержки в ультраслабом поле после неадиабатического переключения поля интенсивности сигналов в ЯМР спектре периодически изменяются – это следствие квантовых биений в ультраслабом поле. Пример таких биений для четырёх изотопомеров метилпропиолата показан на рис.15. Интенсивность сигналов углеродов-13 всех четырёх изотопомеров метилпропиолата когерентно осциллирует с увеличением длительности задержки в ультраслабом поле. Важно отметить, что измерения проводились последовательно для каждого значения задержки, поэтому на запись более 11 тысяч точек по времени понадобилась почти неделя, при этом случайный сдвиг фазы из-за возможного различия во времени переключения поля между в разных реализациях эксперимента был практически равен нулю – это результат высокой стабильности работы установки.

Аналогичная изображённой на рис.16 зависимость интенсивности сигналов от длительности задержки в ультраслабом поле, с точностью до противоположной фазы, наблюдается для сигналов протонов соответствующих изотопомеров метилпропиолата в ^1H ЯМР спектре. Биения интенсивностей сигналов в ^1H и ^{13}C ЯМР спектрах происходят на фоне стремящегося с увеличением длительности задержки к нулю среднего значения, амплитуда биений также постепенно уменьшается со временем. Анализ зависимости интенсивности сигнала $\text{C}1\beta$ от

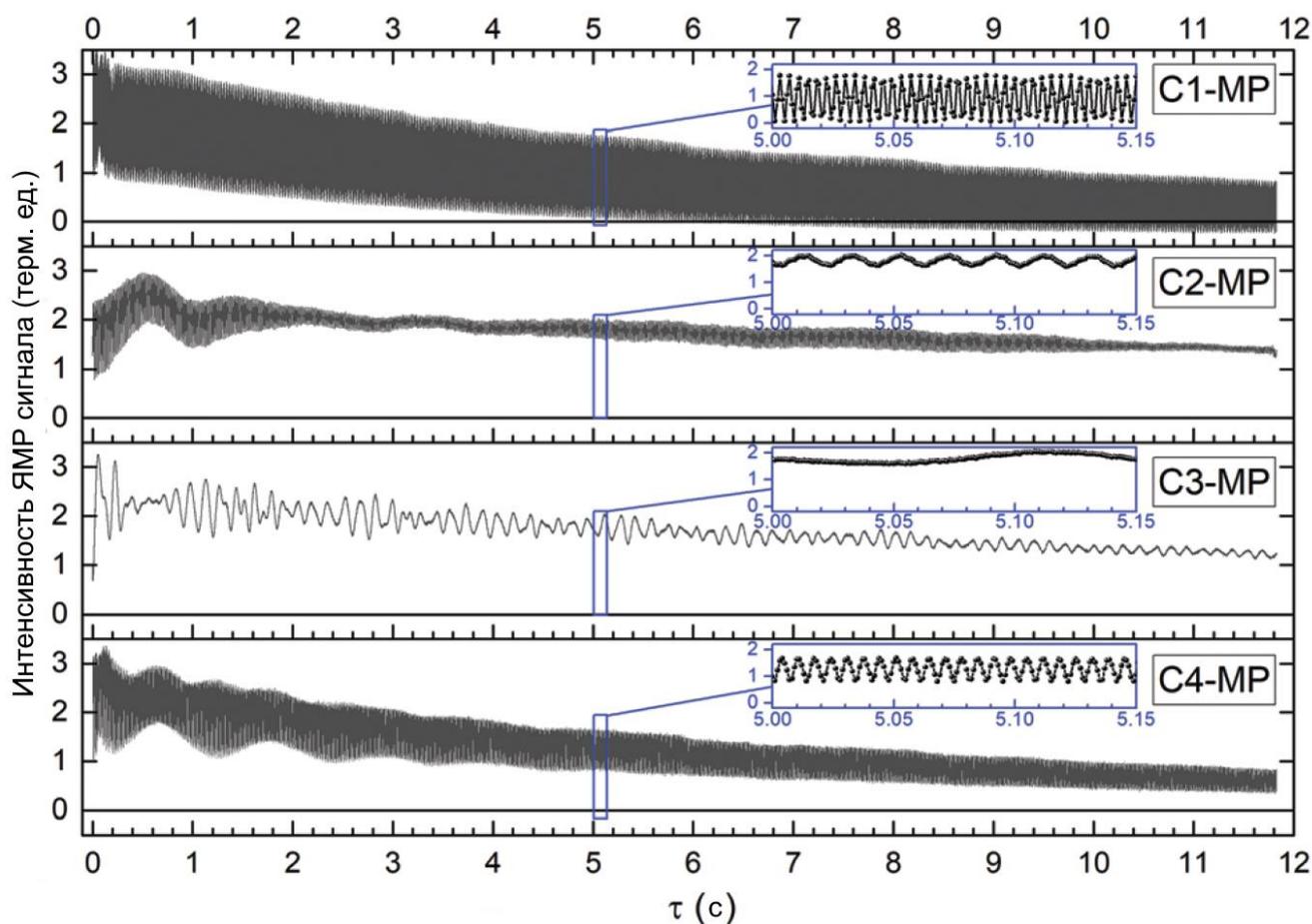


Рисунок 15. Зависимость интенсивности сигналов в ^{13}C ЯМР спектре (относительно термической) от длительности задержки τ в ультраслабом магнитном поле $B_{UL} = 50$ нТл после двух последовательных не адиабатических переключений магнитного поля $B_0 \rightarrow B_{UL}$ и $B_{UL} \rightarrow B_0$, измеренные в смеси метилпропионат/ацетон-d6 [75]. Длительность задержки τ инкрементировалась с шагом 1 мс, общая длительность эксперимента – около 1 недели.

времени дал для времени спада среднего значения (опорной линии) время $T_{avg} = 66$ с (долгоживущая компонента); амплитуда осцилляций затухает быстрее, с постоянной времени $T_{osc} = 14.6$ с (см. рис.16). Поскольку растворённые газы были удалены из раствора, а образец запаян под вакуумом, то, предположительно, межмолекулярное диполь-дипольное взаимодействие ограничивает время существования когерентности.

К данным, изображённым на рис.15, можно применить преобразование Фурье. Полученные в результате Фурье-спектры показаны на рис.17. На этом же рисунке показаны спектры, полученные в результате Фурье-преобразования и численно рассчитанных при помощи программы iRelax [110] зависимостей поляризации углерода-13 четырёх изотопомеров метилпропиолата в результате

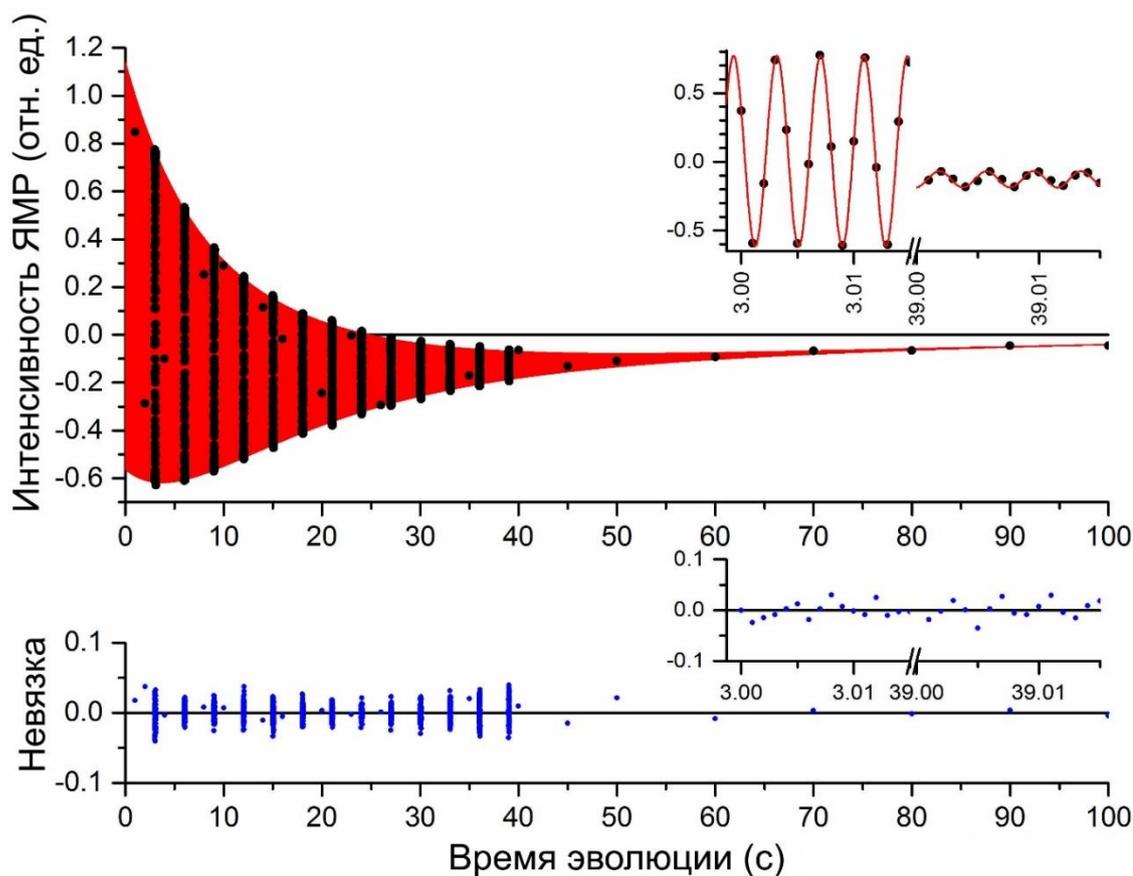


Рисунок 16. Сверху – результат аппроксимации (красная линия) экспериментально наблюдаемой осцилляции интенсивности сигнала $C1\beta$ (черные точки); поведение усреднённой по осцилляциям опорной линии описывалось двумя спадающими экспонентами (с разными постоянными времени), осцилляции вокруг опорной линии – затухающей по экспоненте (с постоянной времени, не равной первым двум) синусоидой. Синими точками снизу показана величина отклонения между экспериментальными данными и аппроксимацией.

эволюции гетероядерных когерентностей при различных напряжённостях ультраслабого магнитного поля $B_{UL} = 20 \dots 100$ нТл. Дополнительные сигналы в Фурье-спектрах, возникающие в результате воздействия остаточного магнитного поля на эволюцию спиновой системы, позволили независимо определить индукцию ультраслабого магнитного поля B_{UL} , равную 53 нТл, при расчётном значении 50 нТл. Несовпадение результатов, вероятно, вызвано наличием некомпенсированных поперечных компонент магнитного поля внутри магнитного экрана. Не зависящие от индукции поля интенсивные сигналы в Фурье-спектре зависимостей интенсивности сигналов ^{13}C ЯМР от времени находятся на частотах, соответствующих частотам сигналов, наблюдаемых в спектрах ЯМР в нулевом поле для соответствующих спиновых систем.

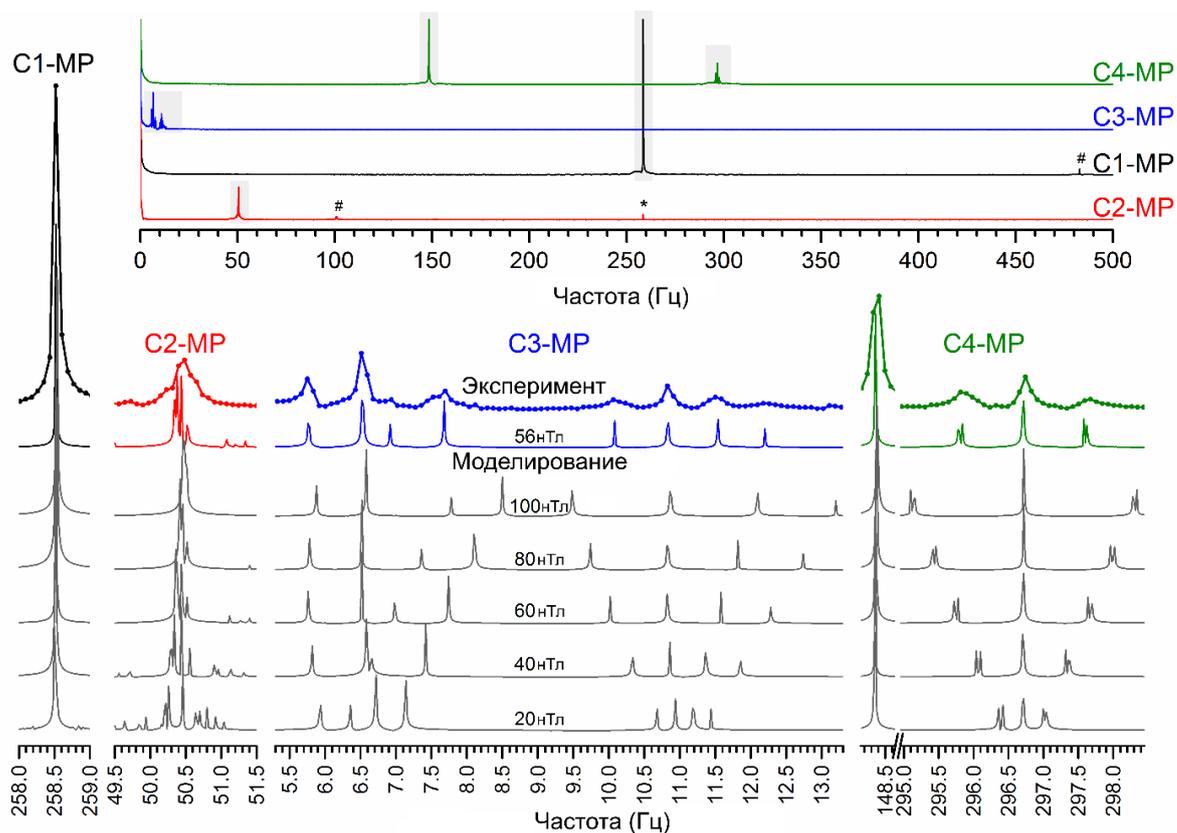


Рисунок 17. Спектры, полученные после преобразования Фурье зависимостей ^{13}C ЯМР сигналов метилпропиолата от времени, изображённых на рис.15.

Таким образом, ЯМР с неадиабатическим переключением магнитного поля до ультраслабого позволяет получать спектры ЯМР нулевого поля без использования атомных магнетометров. Метод ЯМР в нулевом поле (ZULF NMR), как было описано во введении, позволяет измерять эволюцию когерентностей напрямую в ультраслабом поле, но, несмотря на высокую абсолютную чувствительность современных атомных магнетометров, в настоящее время они позволяют, в лучшем случае, работать только с почти 100% изотопно-обогащёнными веществами концентрацией в несколько моль/л [114], если не используются методы создания гиперполяризации ядерных спинов. Описанным в данной работе косвенным методом получения спектров ЯМР нулевого поля, использующим стандартный способ детектирования ЯМР сигнала в сильном поле после неадиабатического переключения поля, можно получать ЯМР спектры нулевого поля веществ с естественным содержанием магнитных изотопов ^{13}C концентрацией в несколько моль/л, или с изотопно-обогащёнными веществами с концентрацией в несколько десятков ммоль/л. Кроме того, неоспоримым преимуществом предложенного метода косвенного детектирования спектров ЯМР

в нулевом поле является сохранение важной информации о химических сдвигах ядер, в то время как при использовании прямого детектирования в нулевом поле эта информация недоступна.

В работе [113] было проведено сравнение прямого и косвенного способов записи спектров ЯМР в нулевом поле. Косвенным методом детектировалась эволюция нуль-квантовых когерентностей в ультраслабом поле смеси веществ: метанол, 95.5% этанол, уксусная кислота, ацетонитрил, а также DMSO-d₆, с естественным содержанием изотопов (кроме DMSO-d₆). Регистрация ¹³C ЯМР спектров производилась стандартным индуктивным способом: в сильном поле ЯМР спектрометра был получен массив ¹³C ЯМР спектров, несущих информацию о химических сдвигах ядер при систематическом изменении значения времени пребывания τ в ультраслабом поле. Фурье-преобразование ЯМР спектров по длительности времени пребывания в ультраслабом поле τ позволило получить двумерный спектр Фурье-спектре, в котором по одной оси находятся значения химического сдвига сигналов, а по другой – частоты биений в ультраслабом магнитном поле, см. рис.18.

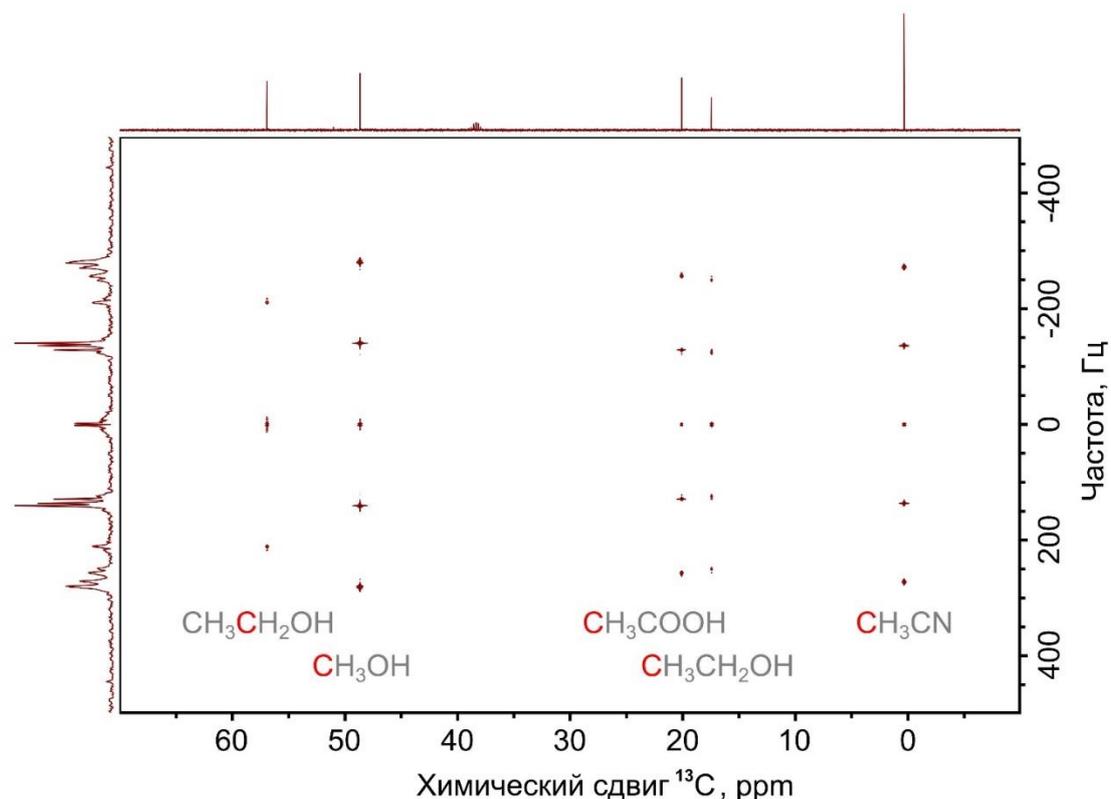


Рисунок 18. Полученный косвенным методом 2D-спектр корреляции химического сдвига сигналов ¹³C ЯМР (горизонтальная ось) и спектров ЯМР (частот осцилляций) в нулевом поле (вертикальная ось).

Сравнение ЯМР спектров нулевого поля индивидуальных изотопно-обогащённых веществ, полученных прямым детектированием в ультраслабом поле, и полученных косвенным методом для смеси небогащённых веществ показано на рис.19. Видно, что они неплохо согласуются между собой. При косвенном методе детектирования спектр получается более шумным, однако важно отметить существенную (три порядка) разницу в концентрациях исследуемых соединений в этих двух методах, и обязательное изотопное обогащение, используемое в методе с прямым детектированием. Другим отличием спектров ЯМР в нулевом поле при косвенном детектировании является большее

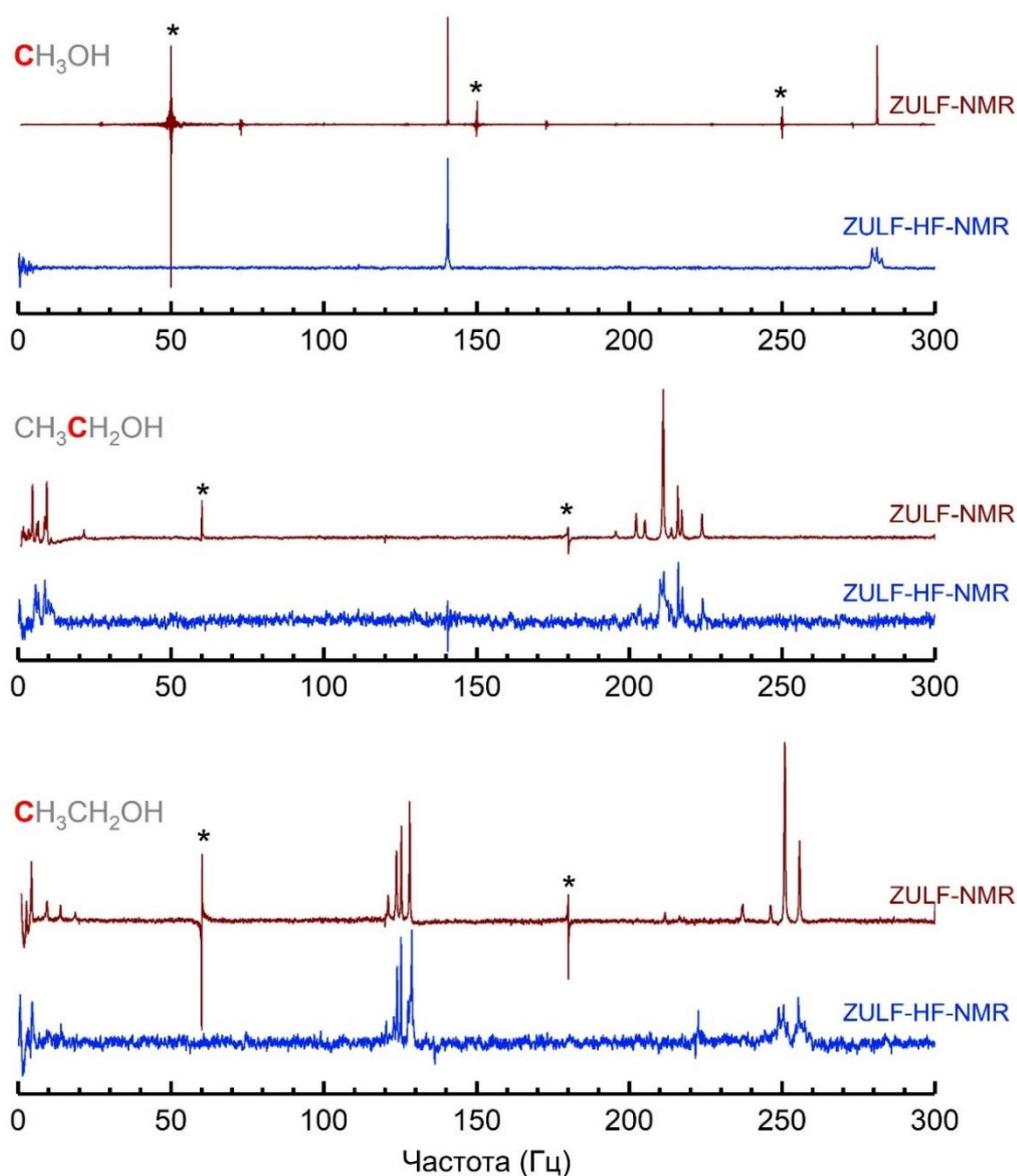


Рисунок 19. Сравнение спектров ЯМР в нулевом поле, полученные прямым (ZULF-NMR) и косвенным (ZULF-HF-NMR) способами. Звёздочкой (*) обозначены паразитные сигналы в спектрах прямого детектирования, соответствующие наводке от линий электропередачи.

проявление влияния остаточного поля, потому что эти спектры могут быть получены в любом магнитном поле, в котором выполняется условие сильной связи, например, до 100 нТл, что приводит к расщеплению части сигналов в спектре, особенно при больших частотах, а при прямом детектировании для корректной работы оптического магнетометра индукция магнитного поля должна быть менее 1 нТл. К достоинствам косвенного способа детектирования можно отнести и отсутствие паразитных сигналов от линий электропередачи, присутствующих в спектрах прямого детектирования, а также возможность одновременной записи спектров для смеси веществ с естественным содержанием магнитных изотопов. Спектр прямого детектирования ЯМР в нулевом поле от смеси веществ, очевидно, будет суммой спектров ЯМР в нулевом поле от индивидуальных веществ, что при отсутствии данных о значениях констант скалярного взаимодействия поставит вопрос о достоверности отнесения сигналов в спектре ЯМР в нулевом поле. Для преодоления этого затруднения разрабатываются продвинутое эксперименты в ZULF режиме [115]; другим способом преодоления этого затруднения является построение базы данных спектров ЯМР в нулевом поле, для чего можно использовать предлагаемый в этой диссертации косвенный способ записи этих спектров.

3.3 КОРРЕЛЯЦИЯ ХИМИЧЕСКИХ СДВИГОВ ЯДЕР ЗА СЧЁТ ИЗОТРОПНОГО СМЕШИВАНИЯ В УЛЬТРАСЛАБОМ МАГНИТНОМ ПОЛЕ

Двумерная (2D) спектроскопия ЯМР [1] представляет собой набор мощных методов увеличения спектрального разрешения, отнесения сигналов в сложных спектрах и получения информации о структуре и динамике различных молекул, особенно, биомолекул. Все двумерные эксперименты ЯМР проводятся согласно протоколу, показанному на рис.20а, и состоят из следующих этапов: 1) приготовление когерентного состояния спинов из начального спинового порядка; 2) эволюции интересующего нас когерентного состояния в течение интервала времени t_1 ; 3) смешивания, необходимого для перевода этого когерентного состояния в наблюдаемый сигнал ЯМР; 4) наблюдения сигнала спада свободной индукции как функции времени t_2 . Последовательность этапов 1-4 циклически повторяется при систематически меняющейся длительности интервала t_1 . В результате интенсивность записываемого сигнала спада свободной индукции $\mathcal{S}(t_1, t_2)$ зависит от двух временных переменных - t_1 и t_2 ; двумерное преобразование Фурье, применённое к сигналу $\mathcal{S}(t_1, t_2)$, даёт требуемый двумерный частотный спектр $\mathcal{S}(\omega_1, \omega_2)$, где ω_1 и ω_2 , по определению, задают , соответственно не прямое и прямое измерения спектра.

Конкретная реализация блоков приготовления и смешивания определяет результат действия импульсной последовательности и зависит от целей эксперимента. Например, кросс-пики в спектрах, полученных методами COSY [116], HSQC [117] и HMBC [118] возникают при наличии прямого скалярного взаимодействия (J -взаимодействия) между ядрами одного магнитного изотопа (т.н. гомоядер, случай COSY) или различных магнитных ядер (т.н. гетероядер, случай HSQC и HMBC), и поэтому являются индикатором существования между ними ковалентной химической связи. В то же время, в эксперименте NOESY наличие кросс-пика является индикатором процесса кросс-релаксации между соответствующими спинами, на основании которой можно рассчитать расстояние между соответствующими атомами [119].

Одним из широко используемых 2D ЯМР экспериментов является TOCSY (TOtal Correlation SpectroscopY – полная корреляционная спектроскопия) [120], созданный для выявления цепочек скалярно взаимодействующих спинов. В случае гомоядерного эксперимента TOCSY блок смешивания реализован при помощи мощных радиочастотных импульсов, которые приводят к так называемому изотропному смешиванию между ядерными спинами. Как следствие, все спины, объединённые общей цепью J -взаимодействий, обмениваются поляризацией, что приводит к формированию кросс-пиков между всеми ЯМР сигналами спинов, относящихся к спиновой системе, в том числе между сигналами спинов, не связанных прямым скалярным взаимодействием. Эксперимент TOCSY очень полезен для разделения сигналов на группы, внутри которых прослеживаются цепочки скалярных взаимодействий; именно поэтому он нашёл широкое применение для решения задачи разделения сигналов в ЯМР спектре от разных веществ, в особенности биомолекул.

В то время как традиционный метод TOCSY применим только к цепям скалярно связанных ядер одного сорта (гомоядрам), нами была предложена гетероядерная версия TOCSY [121]. В предлагаемой версии эксперимента для удовлетворения условий изотропного смешивания образец переносится в нулевое или ультраслабое поле, в то время как этапы эволюции в непрямом измерении и детектирования происходят в поле спектрометра ЯМР высокого разрешения (см. рис.20б). Этот метод, который был назван ZULF-TOCSY, делает возможным изотропное смешивание между гетероядрами при сохранении высокой чувствительности и спектрального разрешения современных методов ЯМР в сильном поле [121]. Демонстрация этого метода проведена на примере обогащенных ^{13}C и ^{15}N изотопами по всем положениям алифатических аминокислот L-лизин и L-лейцин; также этот метод был применён для отнесения ЯМР сигналов в многокомпонентной смеси веществ, а именно – обогащенной ^{13}C и ^{15}N изотопами питательной среды ISOGR0, используемой в биосинтезе изотопно-обогащенных белков при помощи микроорганизмов.

Эксперимент ZULF-TOCSY в случае гетероядерной системы спинов (I , S и K – различные магнитные ядра) состоит в следующем (см. рис.20б): начальный спиновый порядок, соответствующий равновесной поляризации спиновой

системы в сильном магнитном поле B_0 , переводится 90° импульсом по РЧ каналу спинов I в поперечную намагниченность этих спинов, которая эволюционирует в течение времени t_1 (в момент $t = t_1/2$ прикладывается 180° импульс на резонансной частоте спинов S и K для избавления от эффектов их -взаимодействия со спинами I). В момент $t = t_1$ поперечная поляризация спинов I преобразуется обратно, в продольную. Для реализации этапа смешивания производится быстрое (неадиабатическое) переключение поля, в результате которого спиновая система переносится в поле B_{UL} порядка 100 нТл. Система находится в поле B_{UL} в течение времени t_{mix} , за это время спины I , S и K обмениваются поляризацией. Наконец, в конце этапа смешивания, спиновая система снова неадиабатически переносится в сильное поле B_0 , где после приложения 90° импульса на резонансной частоте спинов S записывается сигнал спада свободной индукции. Несмотря на кажущуюся схожесть предлагаемой импульсной последовательности с последовательностью "гетероядерный NOESY", перенос поляризации между гетероядрами в эксперименте ZULF-TOCSY происходит за счёт эволюции нуль-квантовой когерентности $|S\rangle\langle T_0|$, в отличие от кросс-релаксационного механизма в последовательности "гетероядерный NOESY".

Рассмотрим эволюцию гетероядерной спиновой системы $I_m S_n$ в условиях нулевого или ультраслабого магнитного поля B_{UL} под действием скалярного спин-спинового взаимодействия. Гамильтониан спиновой системы в поле $B = B_{UL}$ записывается следующим образом (в единицах \hbar):

$$\hat{H} = -\omega_I \sum_i \hat{I}_{iz} - \omega_S \sum_k \hat{S}_{kz} + 2\pi \sum_{i>j} J_{ij}^{II} (\hat{\mathbf{I}}_i \cdot \hat{\mathbf{I}}_j) + 2\pi \sum_{k>l} J_{kl}^{SS} (\hat{\mathbf{S}}_k \cdot \hat{\mathbf{S}}_l) + 2\pi \sum_{i,k} J_{ik}^{IS} (\hat{\mathbf{I}}_i \cdot \hat{\mathbf{S}}_k) \quad (16)$$

Здесь, $\omega_{I,S} = \gamma_{I,S} \times B_{UL}$ – Зееманово взаимодействие соответствующих спинов ($\gamma_{I,S}$ – гиромагнитные отношения спинов I и S , поправка на химический сдвиг частоты не учитывается), J_{ij}^{II} , J_{kl}^{SS} – константы скалярных взаимодействий между парами спинов I и парами спинов S , соответственно, J_{ik}^{IS} – константы скалярных взаимодействий между спинами I_i и S_k . В ситуации, когда разность Ларморовых частот прецессии $\omega_I - \omega_S$ становится много меньше характерного значения константы гетероядерного скалярного взаимодействия J_{ik}^{IS} , условия смешивания оказываются в точности такими же, что и в стандартном методе TOCSY, в котором

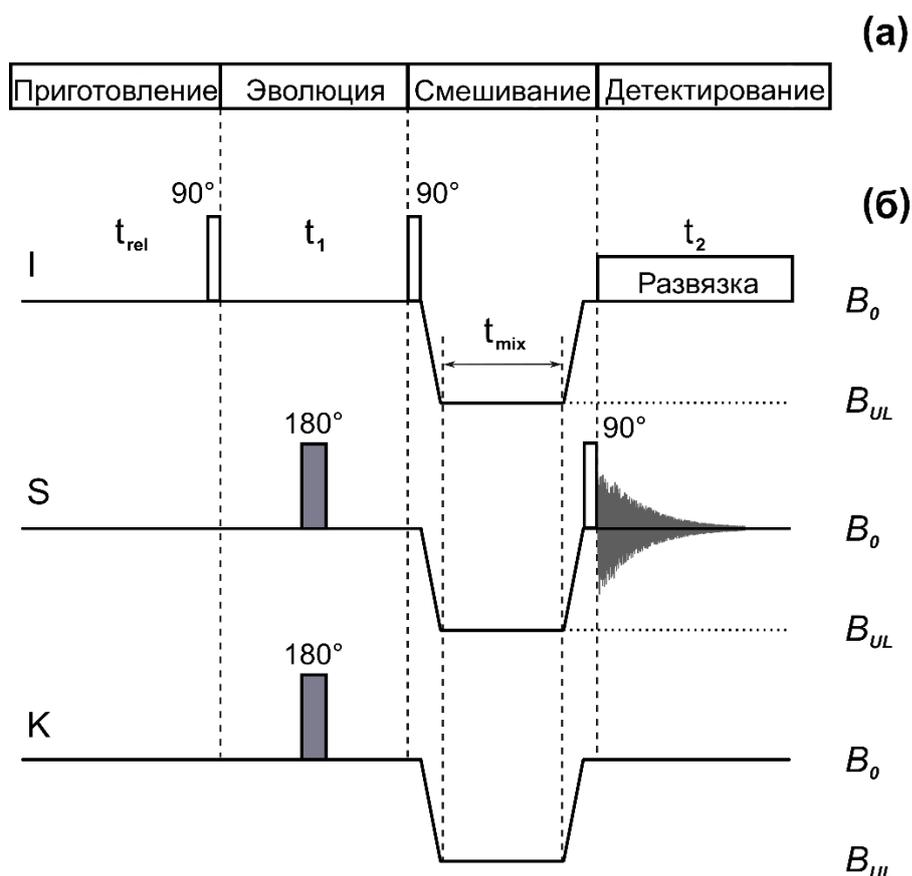


Рисунок 20. (а) Протокол проведения 2D ЯМР эксперимента: приготовление начального спинового порядка; эволюция в течение варьируемого промежутка времени t_1 ; смешивание, переводящее спиновый порядок в наблюдаемый сигнал ЯМР; измерение зависимости интенсивности сигнала от времени t_2 . (б) Протокол гетероядерного эксперимента с переключением магнитного поля ZULF-TOCSY (Zero- or Ultra-Low Field, ZULF). 90° импульс после релаксационной задержки t_{rel} создаёт поперечный спиновый порядок спинов I . Этот спиновый порядок эволюционирует под действием Зеемановского и J -взаимодействий в течение времени t_1 , кодируя таким образом зависимость сигнала от времени в непрямом измерении. Скалярное взаимодействие с гетероядрами S и K рефокусируется приложением 180° импульса на резонансных частотах в момент времени $t = t_1/2$. При $t = t_1$ поперечная поляризация спинов I преобразуется в продольную. Блок «смешивания» состоит из двух переключений поля $B_0 \leftrightarrow B_{UL}$, длящихся $t_{sw} \approx 0.4$ секунды каждый, обрамляющих изотропное смешивание в условиях нулевого или ультраслабого поля длительностью t_{mix} от единиц до нескольких десятков миллисекунд. При детектировании сигнала спада свободной индукции спинов S – зависящего от времени сигнала в прямом измерении – на резонансной частоте спинов I прикладывается развязывающий композитный импульс, подавляющий скалярное взаимодействие спинов I и S .

различие частот прецессии сигналов с разными химическими сдвигами подавлено приложением сильного радиочастотного (РЧ) поля во время этапа смешивания. Таким образом, в методе ZULF-TOCSY, аналогично методу TOCSY, достигается перенос поляризации между всеми спинами в скалярно-связанной гетероядерной спиновой системы. Отличительной особенностью эксперимента TOCSY является то, что во время смешивания происходит опосредованный перенос поляризации,

т.е. передача поляризации между ядрами, не связанными прямым скалярным взаимодействием. За счёт этого в спектре TOCSY можно наблюдать кросс-пики, отвечающие корреляции сигналов спинов, разделённых пятью и более химическими связями.

Для реализации метода ZULF-TOCSY использовался 400 МГц ЯМР спектрометр, оборудованный приставкой для быстрого переключения поля [75], которая позволяет переключать поля $B_0 \leftrightarrow B_{UL}$ за время порядка 0.4 секунды. В эксперименте ZULF-TOCSY необходимо использовать неадиабатическое для гетероядер переключение поля для возбуждения гетероядерных когерентностей. Как было показано ранее [75, 122], неадиабатическое переключение поля преобразует разность поляризаций спина I_i и спина S_j в гетероядерную нуль-квантовую когерентность (ZQC) $|S\rangle\langle T_0|$ этой пары спинов, ответственную за перенос поляризации. Эволюция нуль-квантовых когерентностей задаётся скалярными взаимодействиями в парах спинов гетероядер [75, 122].

Важным шагом в экспериментах ZULF-TOCSY является оптимизация времени смешивания для получения эффективного переноса поляризации. Пример подобной оптимизации приведён на рис.21. Эксперименты по переносу поляризации выполнены по протоколу, показанному на рис.21а. На первом шаге спины различных магнитных ядер (например, ^1H и ^{13}C или ^1H и ^{15}N) релаксируют в поле $B = B_0$ для восстановления равновесной поляризации, различной для разных магнитных ядер из-за неравенства гиромангнитных отношений. Далее, неадиабатическое переключение поля переводит разность поляризаций спинов в нуль-квантовую когерентность, которая эволюционирует в течение времени t_{mix} . Для отслеживания переноса поляризации снова производится неадиабатическое переключение поля $B_{UL} \rightarrow B_0$, сопровождаемое конверсией нуль-квантовой когерентности обратно в поляризацию спинов, после чего измеряется спектр ЯМР в сильном поле. Из рис.21б можно увидеть, что перенос поляризации между ядрами ^1H и ^{13}C в $^{13}\text{C},^{15}\text{N}$ -обогащённой аминокислоте L-лизин происходит за время около двух миллисекунд. Из-за переноса поляризации с протонов сигналы в спектре ^{13}C ЯМР оказываются более интенсивными, чем термически равновесные в поле $B = B_0$. Кинетика переноса поляризации содержит быстрые осцилляции,

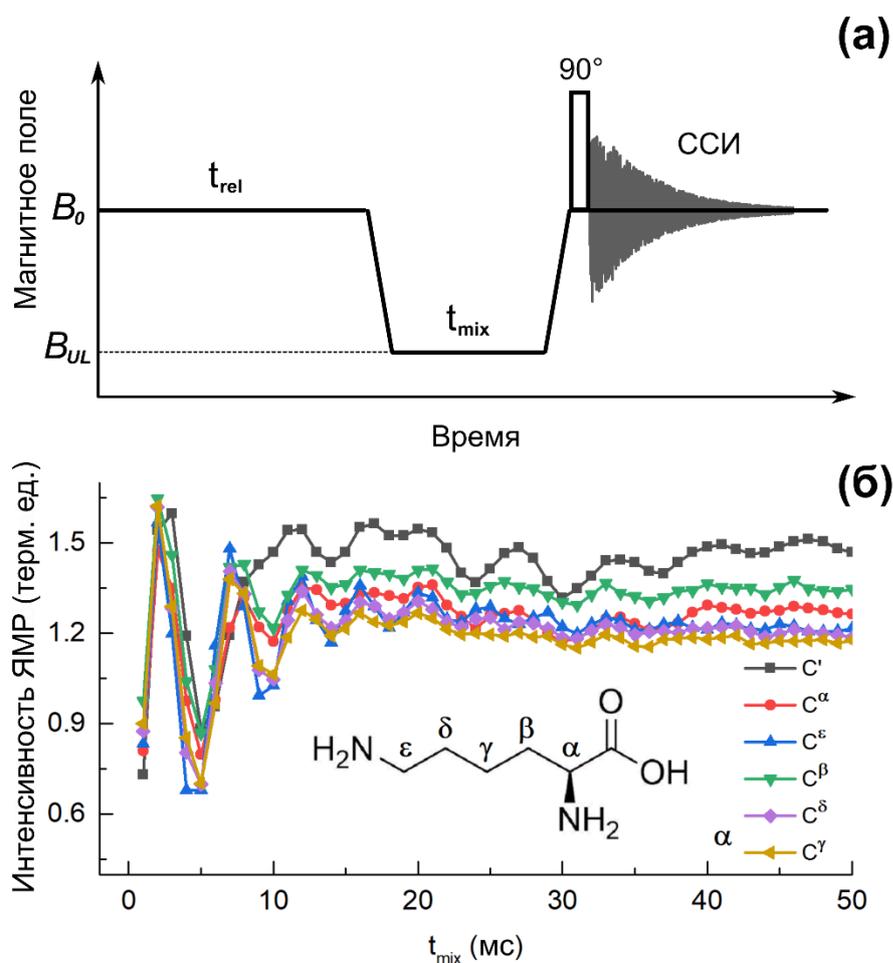


Рисунок 21. (а) Протокол переноса поляризации в условиях ZULF. Спиновая система с равновесной поляризацией неадиабатически переносится в ультраслабое поле B_{UL} . После когерентной эволюции в течение времени t_{mix} , вызванной разностью поляризаций спинов I и S , магнитное поле вновь неадиабатически переключается и спиновая система переносится в поле B_{UL} , где записывается сигнал спада свободной индукции спинов I либо спинов S . Варьируя t_{mix} можно получить кинетику переноса поляризации между спинами I и S . (б) Зависимость интенсивности ^{13}C ЯМР сигнала изотропно $^{13}\text{C},^{15}\text{N}$ -меченой аминокислоты L-лизин от времени смешивания t_{mix} в поле $B_{UL} = 100$ нТл. Интенсивность сигналов нормирована на их равновесные значения в поле $B = B_0$.

вызванные эволюцией ZQC под действием J -взаимодействий. Таким образом, в условиях нулевого и ультра-слабого поля B_{UL} действительно происходит эффективный перенос поляризации между гетероядрами. Аналогичные результаты были получены и в случае другой $^{13}\text{C},^{15}\text{N}$ -обогащённой аминокислоты L-лейцин, а также для переноса поляризации между спинами ядер ^1H и ^{15}N обогащённого лейцина. Оптимальное значение t_{mix} определялось из анализа кинетики переноса поляризации в условиях нулевого или ультраслабого поля, и затем использовалось при проведении двумерного эксперимента ZULF-TOCSY.

^{13}C - ^1H и ^{15}N - ^1H ZULF-TOCSY спектры ^{13}C , ^{15}N меченного лизина представлены на рис.22. Видно, что в магнитном поле $B = B_{UL}$ поляризация действительно

распространяется по всей спиновой системе, поскольку выполнены условия изотропного смешивания. Действительно, в ^{13}C - ^1H спектре все сигналы протонов коррелируют со всеми сигналами углеродов. Например, протоны ϵ - CH_2 имеют кросс-пики со всеми углеродами, хотя существенное скалярное взаимодействие ожидается только со спинами атомов углерода в позициях ϵ и δ . В отличие от этого, в широко используемом стандартном ^1H - ^{13}C спектре HSQC ^{13}C , ^{15}N меченного лизина наблюдается только кросс-пик $\text{H}\epsilon$ - $\text{C}\epsilon$. Более того, кросс-пики карбонильного углерода C' отсутствуют в ^1H - ^{13}C спектре HSQC, в то время как в спектре ZULF-TOCSY карбонильный углерод C' имеет кросс-пики со всеми протонами. В ^1H - ^{15}N ZULF-TOCSY спектре можно наблюдать кросс-пики практически со всеми протонами, в том числе и с протонами, отделёнными значительным числом связей. Этот спектр резко контрастирует с ^1H - ^{15}N HSQC спектром, см. рис.23. Схожие результаты были получены для другой ^{13}C , ^{15}N

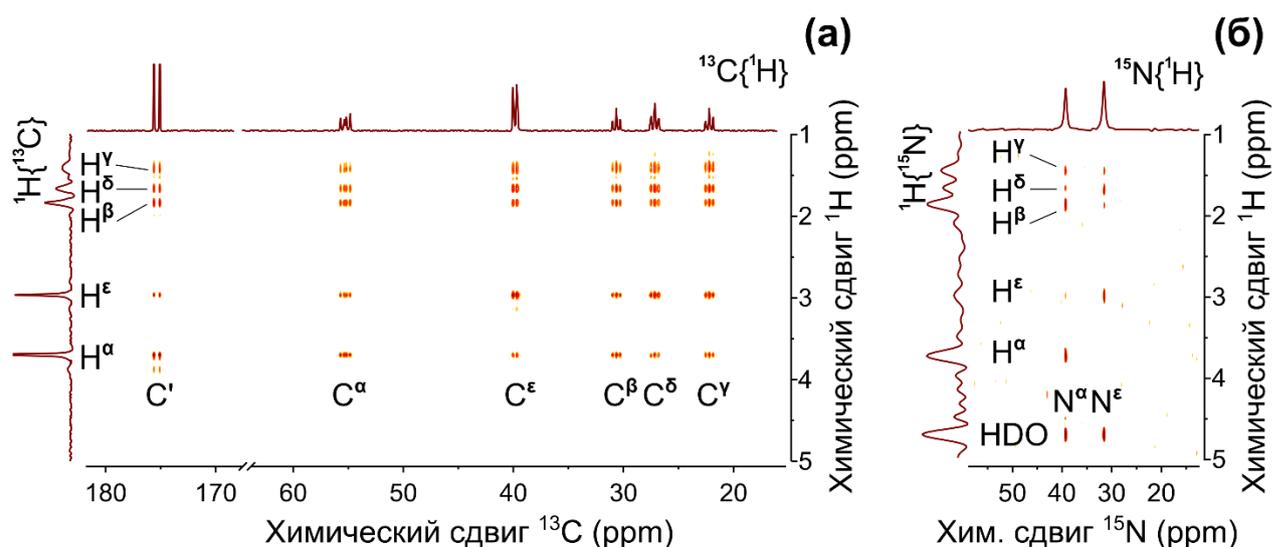


Рисунок 22. (а) ^{13}C - ^1H ZULF-TOCSY спектр ^{13}C , ^{15}N -обогащённого L-лизина. Параметры эксперимента: $B_{UL} = 100$ нТл, $t_{mix} = 2$ мс, 128 точек в непрямом измерении, 4 накопления на точку, релаксационная задержка 6 с, длительность эксперимента 70 минут. Точки 129 - 512 в непрямом измерении были предсказаны по методу Чу-Баха [123]. При обработке зависящего от времени t_1 сигнала $S(t_1, t_2)$ использовалась аподизация функцией $\sin^2\left(\frac{t_1}{t_{1,max}} + \frac{\pi}{2}\right)$. Разрешение спектра 2048×512 точек. (б) ^{15}N - ^1H ZULF-TOCSY спектр ^{13}C , ^{15}N -обогащённого L-лизина. Параметры эксперимента: $B_{UL} = 100$ нТл, $t_{mix} = 50$ мс, 64 точки в непрямом измерении, 128 накоплений на точку, релаксационная задержка 23 с, длительность эксперимента примерно 62 часа. Точки с 64 по 256 в непрямом измерении были предсказаны по методу Чу-Баха [123]. Аподизация в непрямом измерении функцией $\sin^2\left(\frac{t_1}{t_{1,max}} + \frac{\pi}{2}\right)$. Разрешение спектра 2048×256 точек.

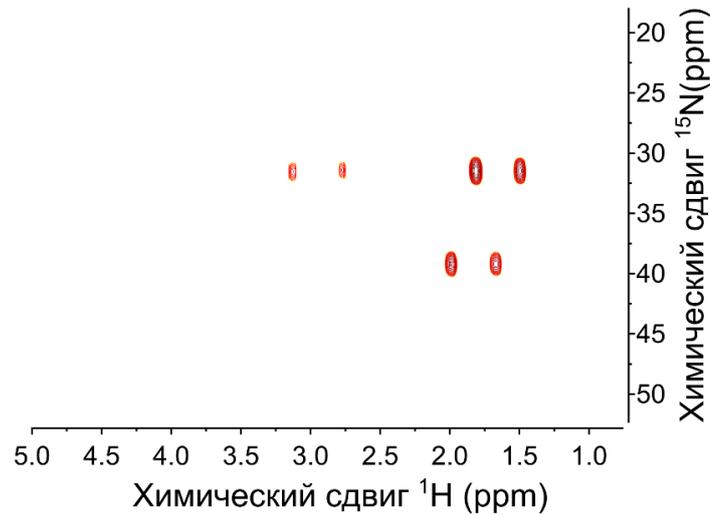


Рисунок 23. ^1H - ^{15}N HSQC спектр ^{13}C , ^{15}N -обогащённого лизина в D_2O .

изотопно-обогащённой аминокислоты – L-лейцина (см. рис.24). Важно отметить, что спектры ZULF-TOCSY детектируются в прямом измерении на резонансной частоте S -ядер, а потому спектральное разрешение в измерении с большим диапазоном возможных химических сдвигов оказывается существенно лучше, чем в спектрах, полученных методами HSQC или HMBC. Таким образом, полученные в эксперименте ZULF-TOCSY спектры действительно позволяют выявлять корреляцию всех сигналов, относящихся к одной гетероядерной скалярно-связанной спиновой системе.

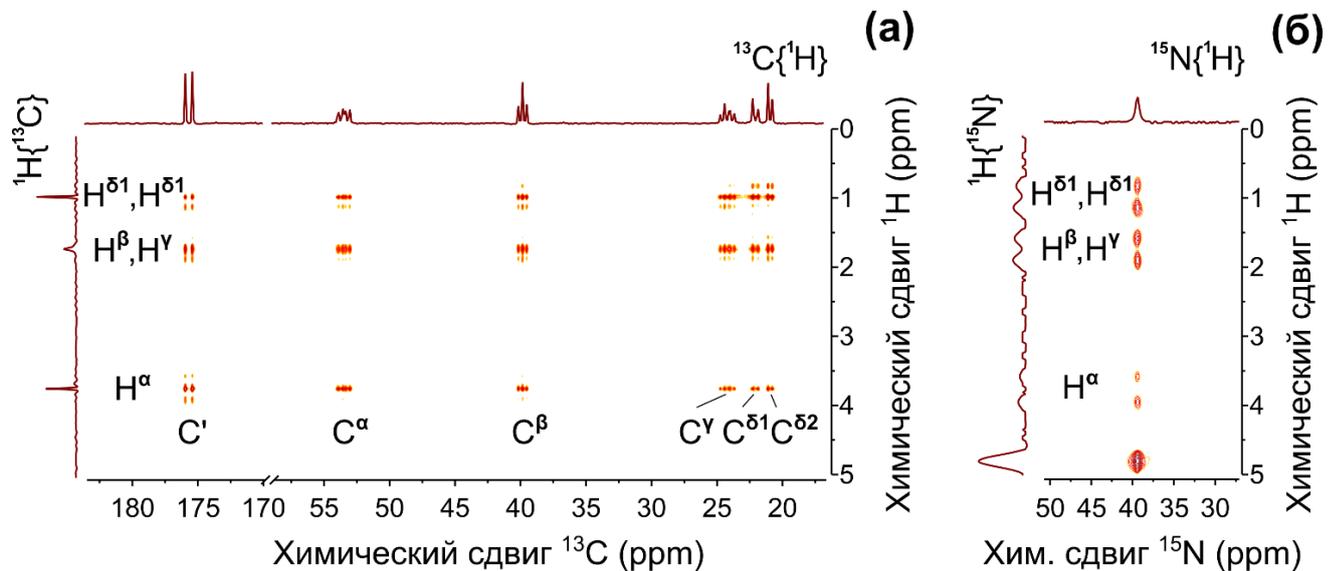


Рисунок 24. (а) ^{13}C - ^1H и (б) ^{15}N - ^1H ZULF-TOCSY спектры изотопно-обогащённого лейцина в D_2O . $B_{\text{UL}} = 100$ нТл, $t_{\text{mix}} = 3$ мс для (а) и 50 мс для (б), 128 точек в непрямом измерении (64 для (б)), 4 накопления на точку (64 для (б)), релаксационная задержка 6 с (25 с для (б)), длительность эксперимента 70 минут (около 62 часов для (б)). Точки в непрямом измерении были предсказаны по методу Чу-Баха [123]. При обработке зависящего от времени t_1 сигнала $S(t_1, t_2)$ использовалась аподизация функцией $\sin^2\left(\frac{t_1}{t_{1,\text{max}}} + \frac{\pi}{2}\right)$.

Указанное выше свойство позволяет использовать метод ZULF-TOCSY для разделения ЯМР сигналов сложной, многокомпонентной смеси на группы сигналов, соответствующих отдельным компонентам смеси, а также проводить идентификацию этих компонент. В качестве тестового образца был выбран раствор комплексной питательной смеси ISOGRO, являющейся смесью различных ^{13}C , ^{15}N изотопно-обогащённых биологически активных соединений различной степени сложности, от свободных аминокислот до коротких пептидов. ^{13}C - ^1H ZULF-TOCSY спектр насыщенного раствора ISOGRO показан на рис.25. На спектре выделены сигналы, относящиеся к скалярно-связанным гетероядерным спиновым системам нескольких аминокислот. Были надёжно идентифицированы сигналы трех аминокислот: аланина, глицина и аспарагиновой кислоты (аспартата). В то же время, в спектре отсутствуют сигналы более массивных молекул, с молекулярной массой более 150 Да. Вероятно, это обусловлено как их низкой концентрацией, так и более короткими временами продольной релаксации ядерных спинов,

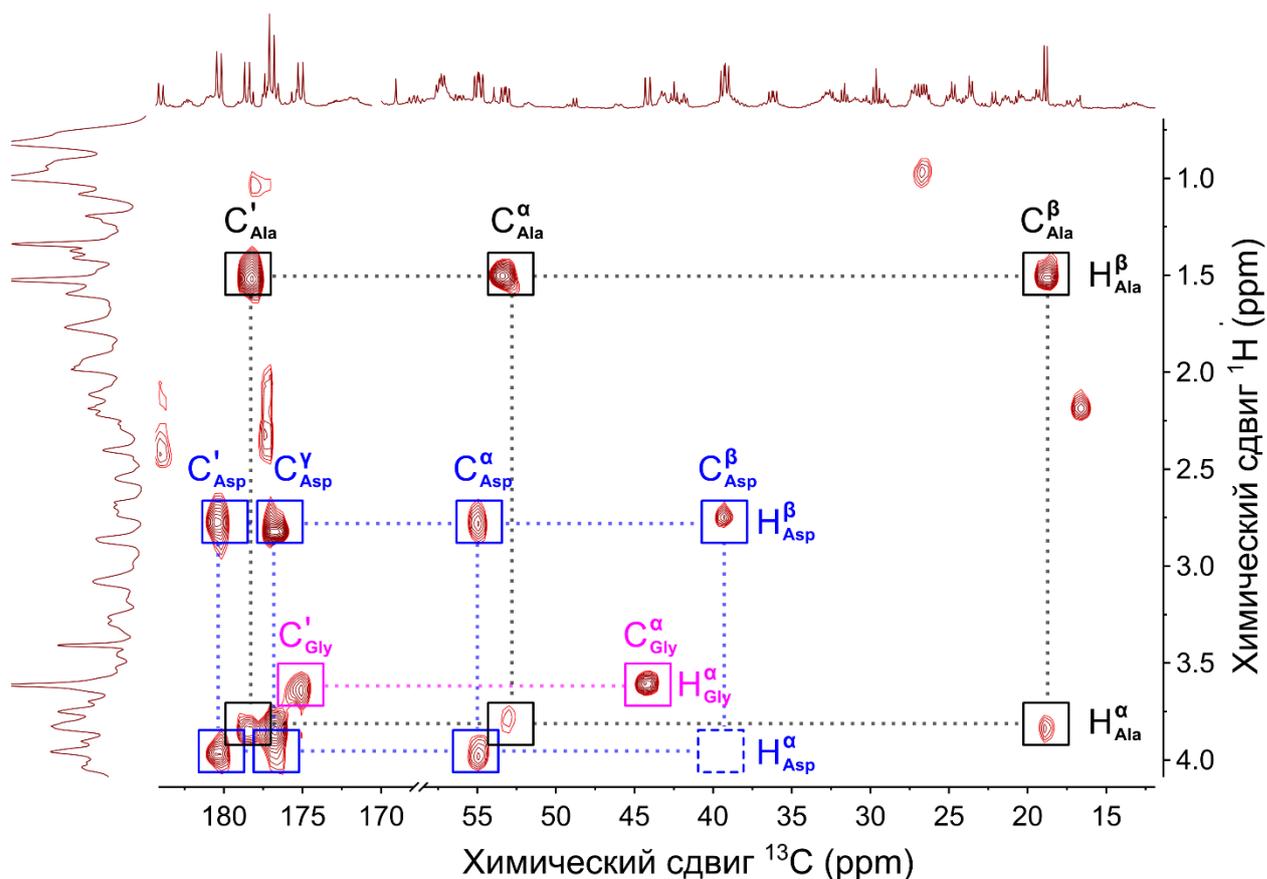


Рисунок 25. Фрагмент спектра ZULF-TOCSY насыщенного раствора питательной среды ISOGRO в D_2O (pH=6.5). Параметры эксперимента: $B_{UL} = 50$ нТл, $t_{mix} = 40$ мс, 64 точки в непрямом измерении, 256 накоплений на точку, релаксационная задержка 3 с, длительность эксперимента – около 19 часов.

приводящими к потере поляризации за время переключения поля $B_0 \leftrightarrow B_{UL}$. Последнее наблюдение может одновременно рассматриваться и как недостаток, и как достоинство предлагаемого метода: в спектре ZULF-TOCSY проявляются в основном сигналы малых молекул, а сигналы молекул с большой молекулярной массой существенно подавляются, что можно использовать для упрощения процесса идентификации компонент смеси.

Особенно перспективным с точки зрения приложений следствием полной корреляции ЯМР сигналов магнитных ядер, связанных в единую скалярно-связанную систему, является возможность применения метода ZULF-TOCSY для последовательного отнесения ЯМР сигналов коротких (2-6 аминокислотных остатка) пептидов. Пептиды – это биополимеры, сформированные аминокислотами посредством пептидной связи $C'_i - N_{i+1}^\alpha$ (i – номер аминокислотного остатка), с количеством аминокислотных остатков не более 50. Исследования пептидов методом ЯМР позволяют получать информацию об их пространственной структуре и взаимодействиях с другими объектами при физиологических условиях. Многие пептиды обладают биологической активностью; например, мет-энкефалин – пентапептид, являющийся нейромедиатором – веществом-участником процесса передачи электрических импульсов между нейронами. В 80-90 годы прошлого столетия были разработаны протоколы ЯМР исследований полипептидов и белков, позволяющие устанавливать соответствие между ЯМР сигналами и химической структурой пептидов и белков. Один из способов получил название «последовательное отнесение» [124]. В этом способе производится согласованный анализ 1H - 1H спектров TOCSY, COSY и NOESY исследуемого пептида в водном растворе (90-95% H_2O). Критически важным для классического метода последовательного отнесения является наличие кросс-пиков амидного и альфа-протонов $H_i^N - H_{i\pm 1}^\alpha$ соседних аминокислот в NOESY спектре. Амидные протоны при физиологических условиях (нейтральное значение pH и комнатной температуре) находятся в достаточно интенсивном обмене с растворителем. Поэтому спектры TOCSY, COSY и NOESY для последовательного отнесения получают для образцов, растворённых в 90-95% H_2O ; в чистой D_2O амидные протоны необратимо замещаются атомами дейтерия. Стандартный подход неприменим для пептидов при слишком высокой скорости

обмена амидных протонов, а также для синтетических производных пептидов, не обладающих α -амидными протонами: пептоидов и N-метилованных пептидов.

За счёт изотропного смешивания в ультраслабом поле в спектре ZULF-TOCSY можно наблюдать кросс-пики, соответствующие корреляции химических сдвигов сигналов карбонильного углерода и альфа-протонов: собственного $^{13}\text{C}'_i - ^1\text{H}_i^\alpha$, и предыдущей аминокислоты, $^{13}\text{C}'_i - ^1\text{H}_{i-1}^\alpha$. Из-за особенностей пространственной структуры пептидной связи, значения соответствующих констант скалярного взаимодействия таковы, что стандартными многомерными способами ЯМР корреляции сигналов гетероядер, таких как HSQC или HMBC, практически невозможно достичь одновременно оптимального смешивания для обоих типов взаимодействия во всей полипептидной цепочке; эти стандартные методы хорошо работают при «узком» распределении величины константы скалярного взаимодействия между гетероядрами. Наоборот, перенос поляризации между спинами ядер различных магнитных изотопов в методе ZULF-TOCSY происходит спонтанно, и можно подобрать время смешивания в ультраслабом поле таким образом, чтобы добиться обмена поляризацией между карбонильными углеродами и альфа-протонами во всей полипептидной цепи.

Пример применения ^{13}C - ^1H спектра ZULF-TOCSY для последовательного отнесения сигналов Вос-мет-энкефалина, который является пептидом Tyr-Gly-Gly-Phe-Met с защитной трет-бутоксикарбонильной группой (Вос) на тирозине, показан на рис.26. Действительно, за счёт корреляций $^{13}\text{C}'_i - ^1\text{H}_i^\alpha$ и $^{13}\text{C}'_i - ^1\text{H}_{i-1}^\alpha$, последовательно передвигаясь вдоль осей спектра между кросс-пиками, можно установить отнесение сигналов в ЯМР спектре к определённым положениям карбонильного углерода и альфа-протона в молекуле [125]. Зная отнесения альфа-протонов, по ^1H - ^1H спектрам COSY и/или TOCSY можно установить отнесения остальных сигналов; если неизвестна аминокислотная последовательность, можно её установить, пользуясь только комбинацией спектров ZULF-TOCSY и стандартного TOCSY. Потенциально содержащий такую же информацию стандартный ^1H - ^{13}C спектр HMBC, записанный за сопоставимое с экспериментом ZULF-TOCSY время на гораздо более чувствительном 700 МГц ЯМР спектрометре с

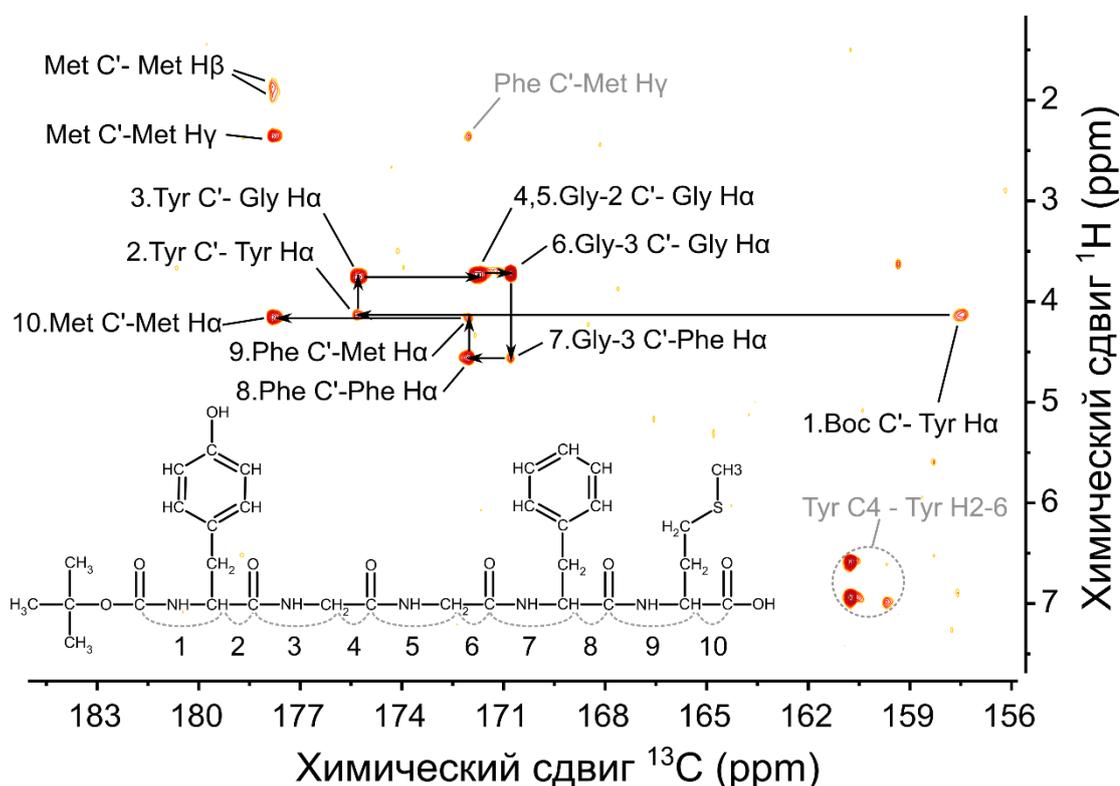


Рисунок 26. ^{13}C - ^1H спектр ZULF-TOCSY 83 мМ раствора пептида Вос-мет-энкефалин в дейтерированной воде. Передвигаясь параллельно осям спектра между кросс-пиками, можно последовательно соотнести все кросс-пики с сигналами ЯМР карбонильных углеродов и альфа-протонов в молекуле.

максимально оптимизированными длительностями задержек, позволяет установить только 60% из возможных отнесений $^{13}\text{C}'_i - ^1\text{H}^\alpha_i$ и $^{13}\text{C}'_i - ^1\text{H}^\alpha_{i-1}$.

Применение метода ZULF-TOCSY для отнесения сигналов биологических объектов ограничено временем продольной релаксации ядерных спинов за время переключения поля. На существующей установке 400 МГц ЯМР с переключением поля минимальное время переключения поля составляет приблизительно 0.4 секунды, что пока ограничивает длину пептидов, доступных для изучения, 6-7 аминокислотными остатками. В то же время, метод ZULF-TOCSY применим для синтетических производных пептидов, не содержащих амидного протона, таких как пептоиды и N-метилированные пептиды, применение которых в качестве лекарственных агентов активно изучается.

3.4 ХПЯ ПРОТОНОВ ФЛАВИНАДЕНИНДИНУКЛЕОТИДА

Флавины играют важную роль в различных биологических системах. В частности, флавинадениндинуклеотид (ФАД) – кофактор криптохромов, светочувствительных белков, встречающихся в фоторецепторах как у растений, так и у животных. В настоящее время существует гипотеза о радикально-парном механизме навигации перелётных птиц относительно магнитного поля Земли, согласно которой чувствительность к магнитному полю возникает вследствие зависимости выхода продукта радикальной реакции от проекции магнитного поля на выделенное направление в комплексе «ФАД-криптохром» [126]. В предлагаемой гипотезе магнитной чувствительности ключевым является предположение о формировании спин-коррелированной радикальной пары при окислении остатков триптофана в полипептидной цепи криптохрома фотовозбуждённым флавином – фрагментом молекулы ФАД. При этом предполагается, что второй фрагмент молекулы ФАД – аденин – не участвует в фотохимических превращениях и выполняет только функцию нековалентного связывания с полипептидом.

С. Стоб и соавторы в работе [127] показали, что при фотовозбуждении ФАД в водном растворе наблюдается формирование отрицательной ХПЯ на протонах, наибольшая интенсивность которой достигалась при облучении раствора в поле ~ 4 мТл. Наблюдения авторов работы [127] указывают на образование короткоживущего бирадикала в триплетном состоянии в результате внутримолекулярного переноса электрона с аденина на флавин (рис.27). При этом, ХПЯ в водном растворе ФАД наблюдается только в узком диапазоне рН водного раствора: от 1 до 4. В работе [127] регистрировали сигнал А2 протонов аденина, время релаксации которого сильно зависит от магнитного поля, но всегда больше, чем время релаксации протона А8. Не имея данных о дисперсии релаксации протонов, авторы работы [127] интерпретировали наблюдаемую полевую зависимость как сумму ХПЯ от двух различных конформаций бирадикала $F^{\bullet-}-L-A^{\bullet+}$ ФАД (F – флавин, L –рибитил-фосфатный линкер, А – аденин). Изменение

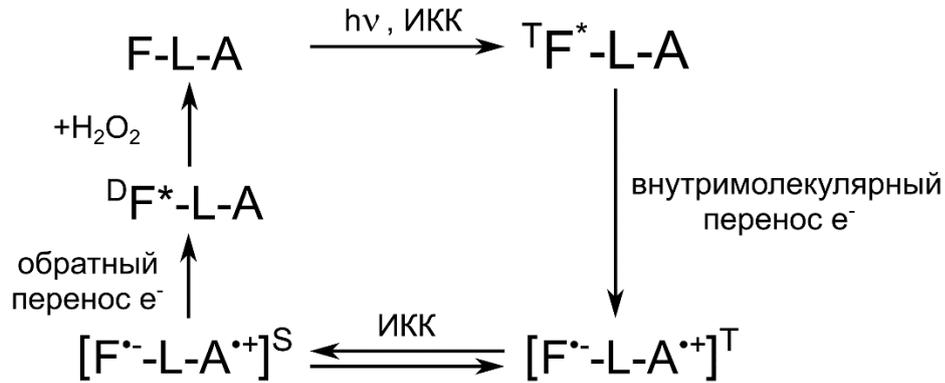


Рисунок 27. Схема циклической фотоиндуцируемой реакции внутримолекулярного переноса электрона с аденина на флаavin внутри молекулы ФАД в водном растворе. Молекула ФАД обозначена как F-L-A, где F-флаavin, L-рибитол-фосфатный линкер, А – аденин. К формированию ХПЯ приводят синглет-триплетные переходы в короткоживущем состоянии с разделением заряда $\text{F}^{\bullet-}\text{-L-A}^{\bullet+}$.

конформации бирадикала при этом предполагалось медленным по сравнению со скоростью синглет-триплетных переходов. Было предположено, что эти два конформационных состояния бирадикала отличаются величиной обменного взаимодействия, и, как следствие, было высказано предположение о существовании двух антипересечений $T-\alpha_N \leftrightarrow S\beta_N$: $B_{LAC,1} = 3$ мТл и $B_{LAC,2} = 10$ мТл, согласно [127]. С момента опубликования работы [127] техника эксперимента и вычислительные возможности существенно улучшились, что позволило критически проверить гипотезу о вкладе двух конформаций бирадикала $\text{F}^{\bullet-}\text{-L-A}^{\bullet+}$ в полевую зависимость ХПЯ.

Были проведены измерения полевой зависимости T_1 -релаксации протонов ФАД при рН 3.9 и 6.6, см. рис.28 (измерения полевой зависимости T_1 -релаксации протонов ФАД при рН 3.9 и их обработка проведены с.н.с. ЛФРР МТЦ СО РАН, к.х.н. А.С. Кирютиным). Увеличение времени T_1 релаксации при увеличении напряжённости магнитного поля связано с переходом от режима быстрого движения, $\omega\tau_c \ll 1$, где ω – частота Ларморовой прецессии, τ_c – время корреляции вращательной диффузии молекулы, к режиму медленного движения $\omega\tau_c \geq 1$. Предполагая, что скорость релаксации ядерных спинов можно описать в приближении флуктуирующего с характерным временем τ локального поля со среднеквадратичной амплитудой G , для описания не зависящего от напряжённости поля вклада R_1^{inf} использовали формулу (17), феноменологически описывающую полевую зависимость времени продольной релаксации протонов:

$$T_1(B) = \frac{1 + (\gamma_H B \tau)^2}{R_1 + R_1^{inf} (1 + (\gamma_H B \tau)^2)} \quad (17)$$

В выражении (17) $R_1 = \gamma_H^2 G^2 \tau$, где γ_H - протонное гироманнитное отношение.

Сравнивая времена корреляции τ локального поля, полученные в результате аппроксимации полевой зависимости T_1 релаксации протонов в разных положениях в молекуле формулой (17), можно судить об относительной подвижности фрагментов молекулы. При рН 3.9 времена корреляции локального поля протонов F6 и A2, F9 и A8 попарно равны в пределах точности определения. Это позволяет сделать вывод об общности локального окружения этих протонов,

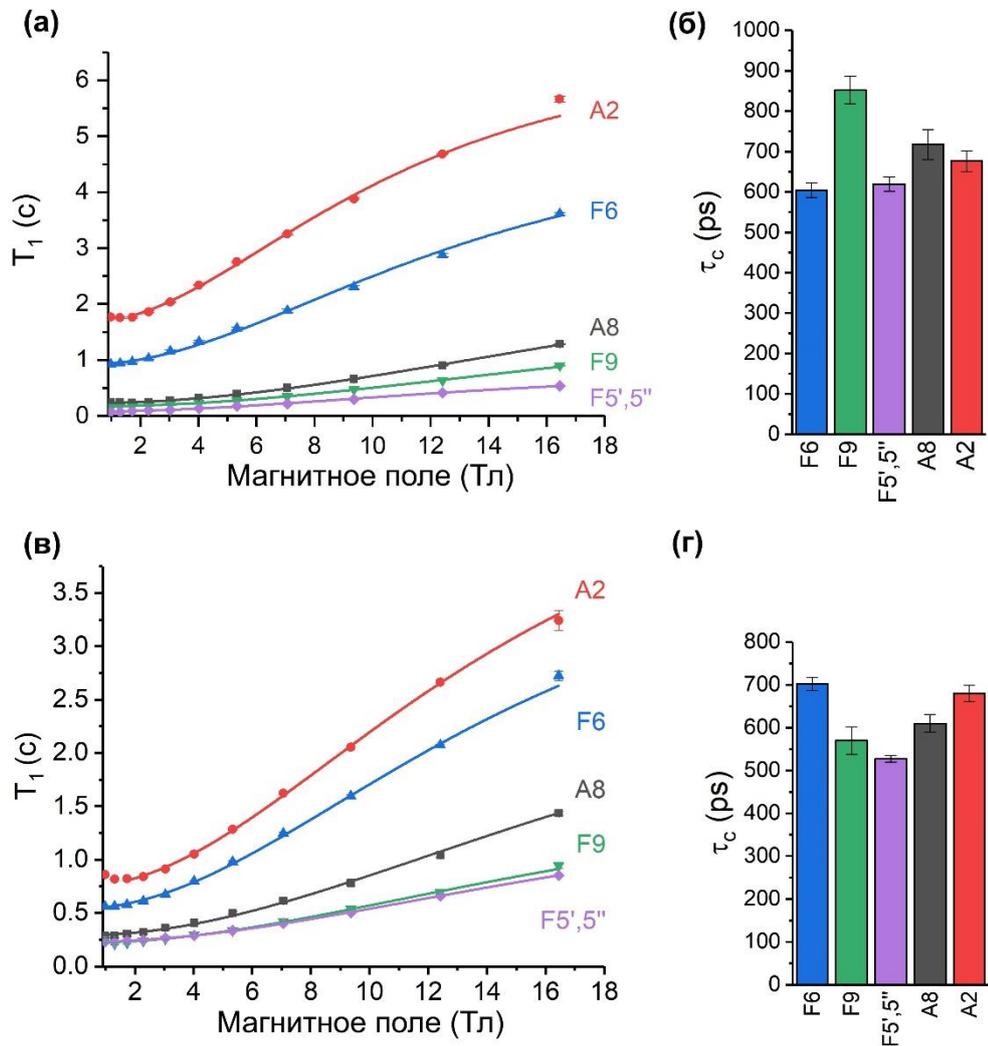


Рисунок 28. (а),(в) – полевые зависимости T_1 -релаксации протонов ФАД при рН=6.6 и рН=3.9, соответственно. Сплошные линии – результат аппроксимации полевых зависимостей T_1 -релаксации. (б), (г) – полученные на основе аппроксимации полевой зависимости релаксации уравнением (17) времена корреляции стохастических флуктуаций локального поля для разных протонов ФАД при рН=6.6 (б) и рН=3.9 (г).

т.е. малости относительного движения фрагментов флавина и аденина ФАД. Отсутствие относительного движения является индикатором структурной жёсткости конформации диамагнитной молекулы ФАД в кислой среде. Дополнительным аргументом в пользу структурной жёсткости молекулы ФАД в водном растворе являются результаты расчётов, сделанные авторами работы [128]. В ней методом DFT был проведён расчёт трехмерной структуры ФАД в водном растворе с явным учётом взаимодействия молекулы ФАД с молекулами растворителя. Расчёты выявили «закрытую» конформацию молекулы ФАД, стабилизированную за счёт π -стэкинга фрагментов аденина и флавина и водородных связей с молекулами воды.

В отличие от результатов в кислом растворе, в нейтральном растворе (рН 6.6) совпадения времён корреляции протонов флавина и аденина не было выявлено: время корреляции локального поля для протона F9 существенно превышает остальные времена, что говорит либо о более «рыхлой» структуре молекулы ФАД по сравнению с её конформацией в кислой среде, либо об одновременном существовании как минимум двух разных конформаций. Исчезновение эффекта ХПЯ при увеличении рН, вероятно, отражает переход между этими конформациями, сопровождающийся увеличением энергетического барьера для переноса электрона между фрагментами молекулы ФАД.

При измерении ХПЯ протонов ФАД в слабом магнитном поле спектр ХПЯ (рис.29) вычислялся как разность ЯМР спектров, полученных по протоколу, показанному на рис.6б, при включенном и выключенном светодиоде во время задержки t_{irr} в слабом поле. В спектре ХПЯ видны поляризованные сигналы протонов A8, A2 аденина и метильных протонов F7 и F8 флавина. Все сигналы – эмиссионные. На основе анализа знаков ХПЯ протонов в сильном поле было установлено, что бирадикал $F^{\bullet}-L-A^{\bullet+}$ рождается в триплетном состоянии, а рекомбинирует из синглетного. Поэтому эмиссионные сигналы в спектре ХПЯ указывают на формирование ядерной поляризации по $T_{-}\alpha_N \rightarrow S\beta_N$ механизму.

Из-за скалярного спин-спинового взаимодействия протонов A8 и A2 аденина в слабом поле, между ними происходит перенос поляризации за время порядка $\tau \sim 1/J \approx 2$ секунд [40], поэтому для подавления эффектов переноса поляризации

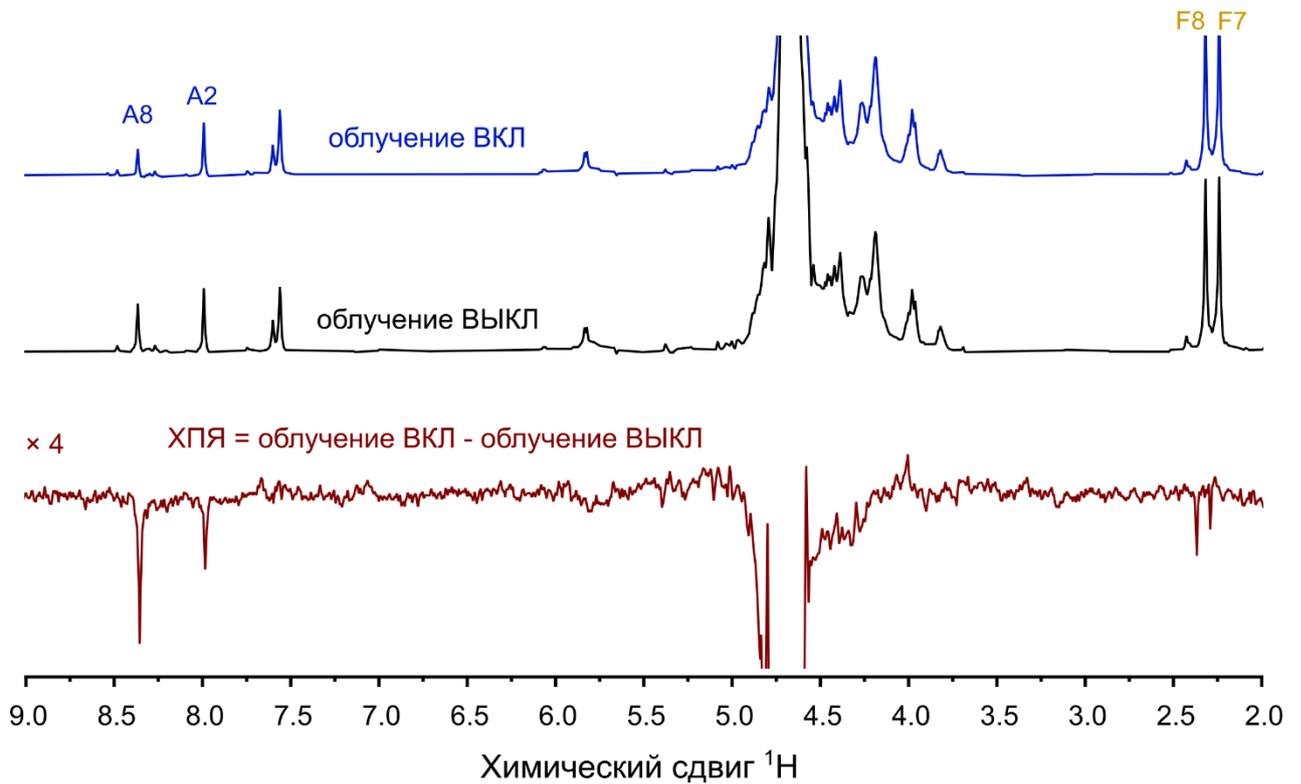


Рисунок 29. Сверху: ЯМР спектр, полученный при облучении образца в слабом поле. В середине: ЯМР спектр, полученный без облучения образца. Снизу: спектр ХПЯ - разность ЯМР спектров, полученных с облучением и без облучения образца светодиодом.

использовалось короткое время облучения $t_{irr} = 0.5$ секунды. Поскольку время продольной релаксации T_1 поляризуемых протонов сравнимо с временем переключения поля ($t_{var} \sim 0.3-0.4$ секунды в зависимости от требуемой напряжённости поля B_L), измеренная зависимость интенсивности сигналов ХПЯ от поля облучения B_L отличается по амплитуде и форме от реальной. Для восстановления реальной полевой зависимости ХПЯ численно рассчитывалось изменение разности населённостей ядер, сигналы которых наблюдались в спектре ХПЯ, с использованием известной зависимости напряжённости поля от времени на этапе перемещения образца и полевой зависимости T_1 -релаксации этих ядер. Влияние коррекции на полевую зависимость ХПЯ протона А8 показано на рис.30.

Полевые зависимости ХПЯ всех протонов ФАД имеют одинаковую несимметричную форму, с максимумом ХПЯ в поле $B_L \approx 4$ мТл и шириной на полувысоте ~ 12 мТл. Ненулевой эффект ХПЯ протона А8 наблюдается вплоть до $B_L = 200$ мТл. Несимметричность полевой зависимости ХПЯ и большой диапазон полей, в которых наблюдается эффект, указывают на существенный разброс в

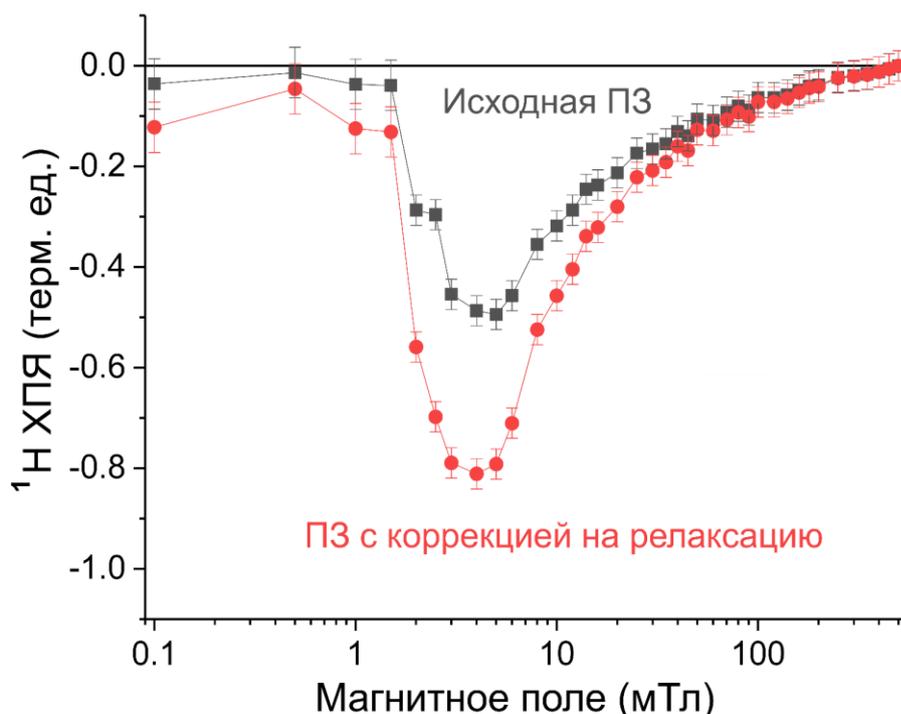


Рисунок 30. Черные квадраты – измеренная зависимость интенсивности сигнала ХПЯ протона А8 от поля облучения B_L ; Красные круги – скорректированная на релаксацию во время переключения поля полевая зависимость ХПЯ протона А8.

значении обменного взаимодействия в короткоживущем бирадикале $F^{\bullet}-L-A^{\bullet+}$. Для определения распределения по расстояниям между радикальными центрами в короткоживущем бирадикале $F^{\bullet}-L-A^{\bullet+}$ были проведены расчёты спиновой динамики с разными модельными функциями распределения по расстоянию. Алгоритм расчёта спиновой динамики в гибких бирадикалах впервые был предложен в работе [98] и модифицирован авторами работы [129].

Перебором значений параметров расчёта и функции распределения по расстояниям удалось добиться хорошего согласия между результатом расчёта и измеренной полевой зависимостью ХПЯ (рис.31; табл.2). Предполагается, что обменное взаимодействие экспоненциально спадает с расстоянием (игнорируются зависимость от взаимной ориентации орбиталей):

$$J_{ex}(r) = J_0 \cdot e^{-\alpha r} \quad (18)$$

На рис.31б цифрой 1 обозначено модельное распределение, дающее хорошее согласие между моделированием и данными эксперимента при напряжённости поля $B_L \geq 2$ мТл. Это нормальное (Гауссово) распределение, отвечающее среднему расстоянию между радикальными центрами $D_{mean} = 0.89$ нм и характеризуемое стандартным отклонением $\sigma = 0.15$ нм. В поле $B_L < 2$ мТл результат

моделирования и экспериментальные данные существенно расходятся. Улучшить согласие моделирования с экспериментом при малых B_L можно, если уменьшить вес конформаций с большим расстоянием: цифрой 4 на рис.31б обозначена левая половина нормального распределения с $D_{mean} = 1.03$ нм и $\sigma = 0.22$ нм. Функции распределения с номерами 1 и 4 практически совпадают в диапазоне расстояний от 0.25 нм до 0.85 нм; поэтому, практически одинаковой получается форма посчитанных полевых зависимостей ХПЯ при $B_L \geq 4$ мТл. В слабых полях $B_L < 2$ мТл, расчёт с распределением 4 даёт лучшее приближение к экспериментальным данным, чем расчёт с распределением 1, хотя полного совпадения по прежнему нет. В принципе, возможно дальнейшее уточнение функции распределения по расстояниям в бирадикале.

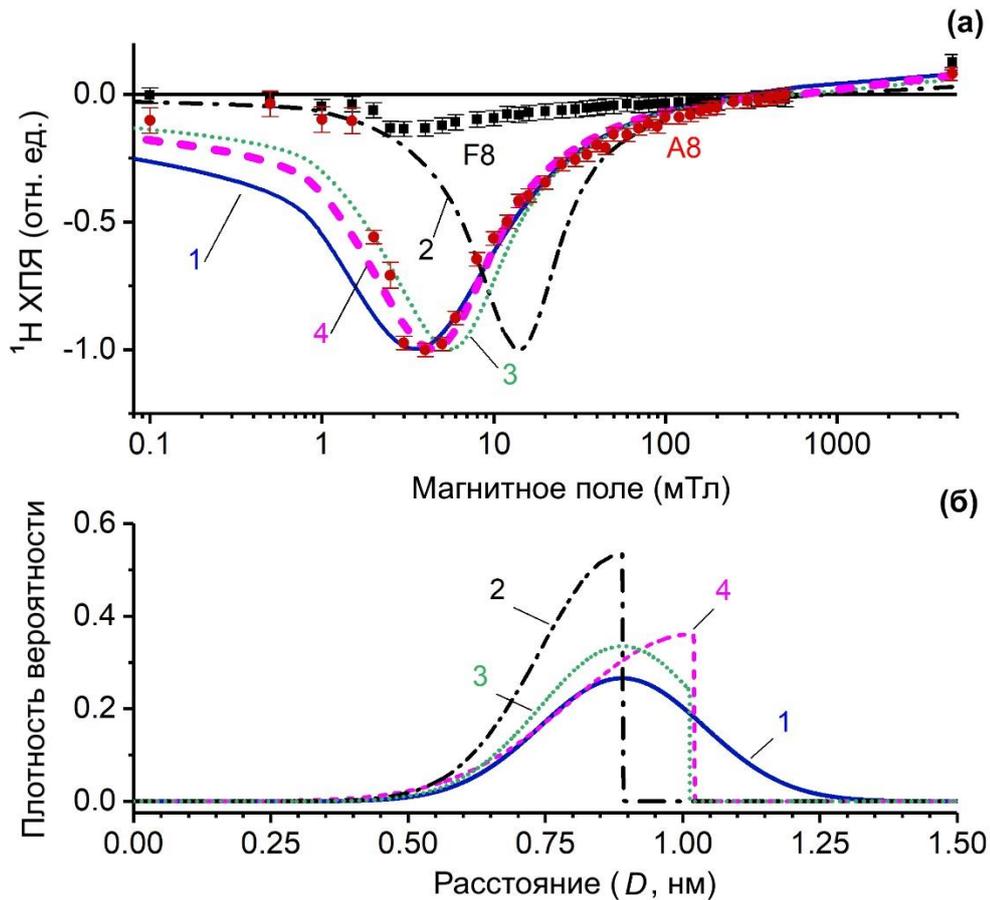


Рисунок 31. (а) – черные квадраты и красные кружки – измеренная полевая зависимость ХПЯ протонов F8 и A8 ФАД. Линии, помеченные цифрами 1-4 – результат моделирования ПЗ ХПЯ для разных функций распределения. (б) – модельные функции распределения по расстояниям в бирадикале F•-L-A•+: 1 – нормальное распределение со средним расстоянием $D_{mean} = 0.89$ нм и стандартным отклонением $\sigma = 0.15$ нм; 2 – левая половина от распределения 1; 3 – распределение 1, «отсеченное» при $D > 1.02$ нм; 4 – левая половина нормального распределения с $D_{mean} = 1.03$ нм, $\sigma = 0.22$.

Дополнительно проводились расчёты ПЗ ХПЯ для функций распределения, моделирующих две различающиеся конформации бирадикала (рис.32). Однако улучшить соответствие между экспериментальными данными и моделированием по сравнению с распределением 1 не удалось. Таким образом, полевая зависимость ХПЯ протонов ФАД лучше всего описывается моделированием с распределением 4: левой половиной нормального распределения с $D_{mean} = 1.03$ нм и стандартным отклонением $\sigma = 0.15$ нм. Поскольку все попытки моделирования полевой зависимости ХПЯ с одним максимумом при использовании распределения по расстояниям между радикальными центрами с двумя локальными максимумами оказались неудачными, можно утверждать, что гипотеза о существовании двух различающихся конформаций бирадикала $F^{\bullet}-L-A^{\bullet+}$, высказанная Стобом и соавторами в работе [127], не нашла подтверждения в свете данных, полученных при измерении эффекта на современной установке.

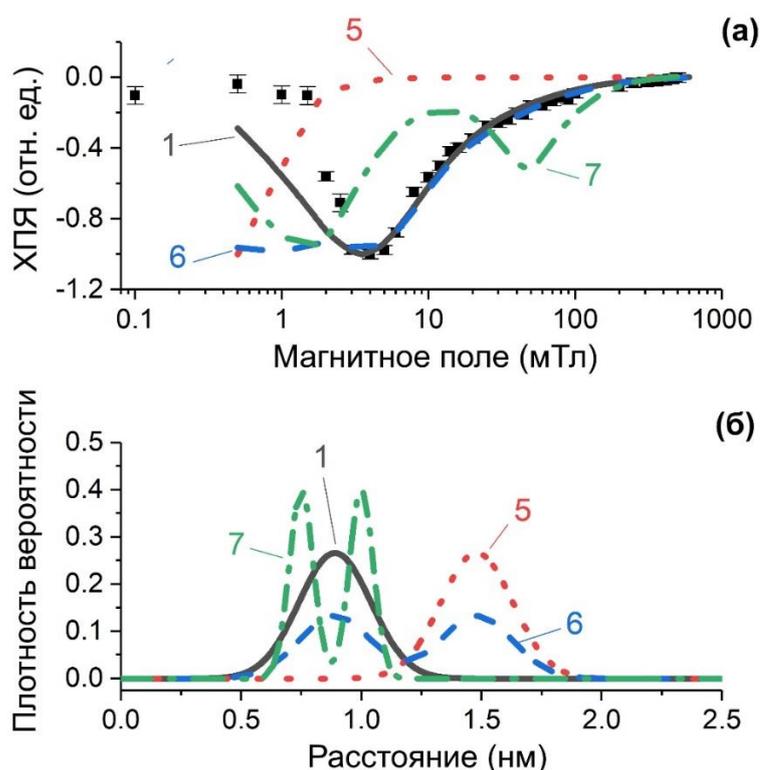


Рисунок 32. (а) – точки – экспериментальные данные, линии – результаты моделирование с модельными распределениями 1, 5-7, нормированные на интенсивность в максимуме. (б) – модельные функции распределения по расстояниям в бирадикале: 1 – такое же, что на рис.31, 5 – нормальное распределение $D_{mean} = 1.48$ нм, $\sigma = 0.15$ нм; 6 – сумма распределений 1 и 5 с равными весами; 7 – сумма нормальных распределений $D_{mean,1} = 0,75$ нм, $D_{mean,2} = 1$ нм, $\sigma_1 = \sigma_2 = 0.05$ нм

Таблица 2. Значения параметров моделирования ПЗ ХПЯ протонов ФАД

Символ	Описание	Значение
g_a	g-фактор первого радикала (аденин)	2.0034
A	константа СТВ на наблюдаемом ядре со спином 1/2	-0.7 мТл
g_b	g-фактор второго радикала (флавин)	2.0035
J_0	амплитуда обменного взаимодействия, $J_{ex}(r)=J_0 \cdot e^{-\alpha r}$	$-2.3 \cdot 10^8$ мТл
α	параметр спада обменного взаимодействия с расстоянием	0.214 нм
D	эффективный коэффициент диффузии	$2 \cdot 10^{-7}$ см ² /с
G	среднеквадратичная амплитуда локального поля	$6.1 \cdot 10^{17}$ с ⁻²
τ_u	время корреляции локального поля	1 пс
τ_c	время корреляции вращательной диффузии	800 пс
k_p	константа скорости рекомбинации	$2 \cdot 10^{10}$ с ⁻¹
k_s	константа скорости гибели бирадикала	10^5 с ⁻¹
A_{add}	СТВ с дополнительными ядрами	1.67 мТл
n	количество дополнительных ядер	4

3.5 ХПЯ В ДИАДАХ ДОНОР-ЛИНКЕР-АКЦЕПТОР

Растворы диад D-X-A в дейтерированном толуоле исследовались методами ХПЯ с временным разрешением и ХПЯ с переключением поля. Измерения спектров ^1H ХПЯ диад с временным разрешением проводились н.с. ЛФРР МТЦ СО РАН, к.х.н. Н. Н. Фишман. Образцы облучались импульсами 355 нм лазера при проведении экспериментов по измерению ХПЯ с временным разрешением, и светодиодом 403 нм в экспериментах по измерению ХПЯ с переключением поля. В обоих случаях облучение приводило к образованию состояния с частичным разделением зарядов между ТАА и линкером. Полоса возбуждения в состоянии с разделением заряда практически полностью перекрывается с полосой возбуждения акцептора электрона NDI, делая невозможным селективное возбуждение исключительно в состояние с разделением заряда. Продуктом фотоиндуцированного переноса электрона является бирадикал $\text{ТАА}^{\bullet+}$ -линкер- $\text{NDI}^{\bullet-}$. Этот короткоживущий бирадикал гибнет в результате спин-селективного обратного переноса электрона от акцептора $\text{NDI}^{\bullet-}$ к донору $\text{ТАА}^{\bullet+}$, приводящего к образованию исходной диамагнитной молекулы в основном электронном состоянии, но с неравновесной населённостью ядерных спиновых состояний, т.е. формированию ХПЯ.

3.5.1 ХПЯ с временным разрешением диад D-X-A

В сильном магнитном поле, в котором энергия взаимодействия спина электрона с магнитным полем намного превышает энергию других взаимодействий $g\beta B_0 \gg a_{\text{HFC}}, 2|J_{\text{ex}}|$, химически индуцированная поляризация ядер в диадах D-X-A формируется по $S - T_0$ механизму. На рис.33 изображены спектры ХПЯ с временным разрешением четырех диад D-X-A, полученные при нулевой задержке между импульсом лазера и детектирующим РЧ импульсом, в поле 4.7 Тл.

Сигналы ХПЯ наблюдаются для всех протонов с ненулевым СТВ в короткоживущих бирадикалах. Положительная поляризация (усиленная абсорбция) наблюдалась для *мета*- и $-\text{OCH}_3$ протонов ТАА, и для протонов 2'',3'',7'',8'' NDI. *Орто*-протоны ТАА оказались отрицательно поляризованными.

Знак Γ интегрального эффекта ХПЯ в продукте рекомбинации геминальной радикальной пары описывается правилом Каптейна [130]:

$$\Gamma = \mu \times \text{sgn}(\Delta g) \times \text{sgn}(A) \quad (19)$$

где $\mu = +1$ (-1) соответствует триплетному (синглетному) состоянию радикальной пары перед рекомбинацией, $\Delta g = g_1 - g_2$ - разность g-факторов радикалов, образующих радикальную пару (индекс 1 относится к радикалу, содержащему рассматриваемое магнитное ядро), A - константа СТВ с данным ядром.

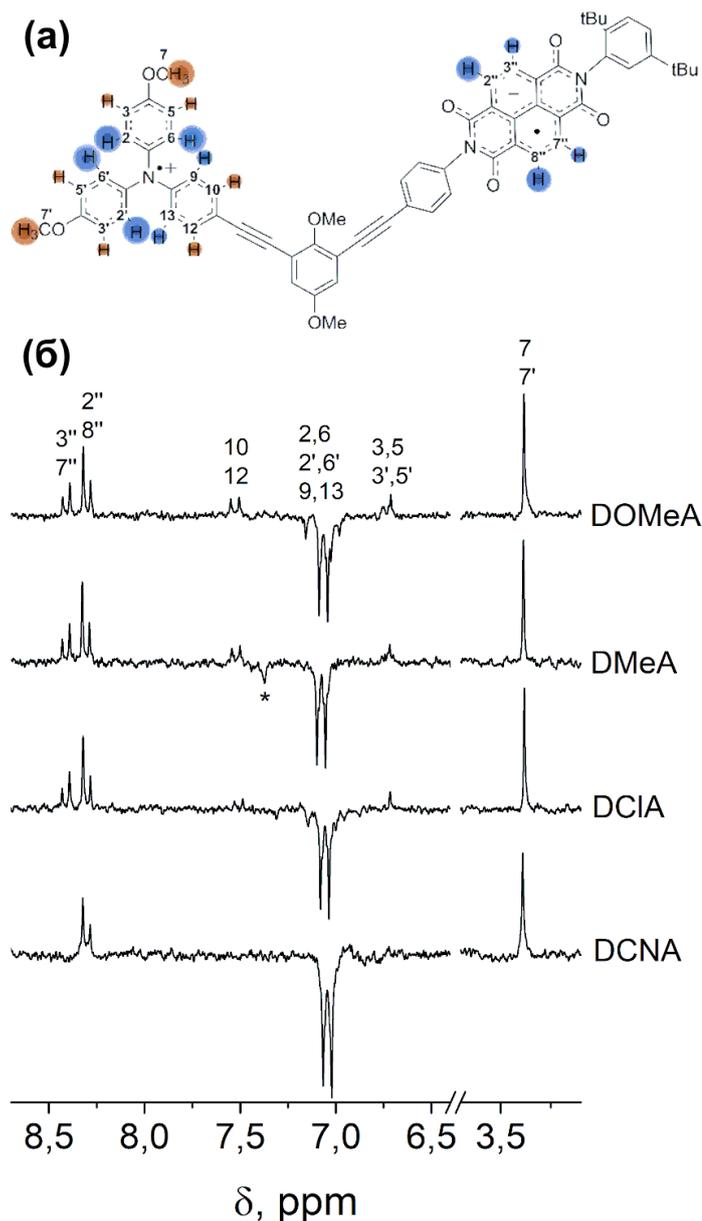


Рисунок 33. (а) Структура бирадикала ТАА^{•+}-линкер-NDI^{•-} диады DOMeA. Величина СТВ на данном ядре пропорциональна площади окрашенной области под символом соответствующего атома, знак константы СТВ показан цветом: красный – СТВ > 0, синий – СТВ < 0. (б) 200 МГц ¹Н ЯМР спектры, записанные сразу после приложения короткого лазерного импульса к растворам 54 мкМ DOMeA, 50 мкМ DMeA, 57 мкМ DCIA и 45 мкМ DCNA. Для детектирования спектра использовался 1 мкс РЧ импульс. Звездочкой отмечен сигнал растворителя, оставшийся после подавления термической намагниченности.

Предполагается, что g -факторы электронов в бирадикале равны g -факторам радикалов соответствующих радикальных фрагментов диад: для катион-радикала $\text{TAA}^{\bullet+}$ $g=2.0033-2.0034$, для анион-радикала $\text{NDI}^{\bullet-}$ $g=2.0038-2.0039$ [131]. Знаки констант СТВ на протонах катион-радикала $\text{TAA}^{\bullet+}$ и анион-радикала $\text{NDI}^{\bullet-}$ были предсказаны квантово-химическими расчётами по методу теории функционала плотности, проведёнными м.н.с. ЛФРР МТЦ СО РАН, к.х.н. М. С. Пановым. Из знака наблюдаемого эффекта ХПЯ, знаков констант СТВ и правила Каптейна следует, что изучаемые бирадикалы рекомбинируют из синглетного состояния. Это утверждение согласуется с данными моделирования кинетик MARY численным решением уравнения Лиувилля-фон-Неймана [132].

При геминальной рекомбинации радикальной пары, образовавшейся в невязком растворителе в сильном магнитном поле, интенсивность сигналов в спектре ХПЯ прямо пропорциональна величинам констант СТВ на соответствующих ядрах [133]. Прямая пропорциональность между константой СТВ в короткоживущих радикальных парах – интермедиатах реакции и интенсивностью сигналов ХПЯ продуктов геминальной рекомбинации наблюдается и в случае взаимодействия одного электрона с несколькими магнитными ядрами, что дает возможность построить «карту» распределения СТВ с протонами и сделать оценку распределения спиновой плотности. Выполнение этого соотношения было проверено для жёстких бирадикалов, получаемых в результате фотовозбуждения диад D-X-A. Наличие ненулевого обменного взаимодействия в состоянии с разделением заряда может влиять на величины констант СТВ; тем не менее, было обнаружено, что указанная прямая пропорциональность между величиной СТВ и интенсивностью сигнала в геминальном спектре ХПЯ выполняется достаточно хорошо (см. рис.34). Однако, внимательное изучение спектров ХПЯ показывает, что интенсивности сигналов протонов $\text{H}3''$ и $\text{H}7''$ всегда меньше интенсивности сигналов $\text{H}2''$ и $\text{H}8''$, что отражает неравномерность распределения спиновой плотности в ароматической системе акцептора – диимида нафталина, а именно – указывает на смещение спиновой плотности в направлении линкера. Наиболее выражен этот эффект смещения спиновой плотности для диады DCNA, у которой сигналы протонов $\text{H}3''$

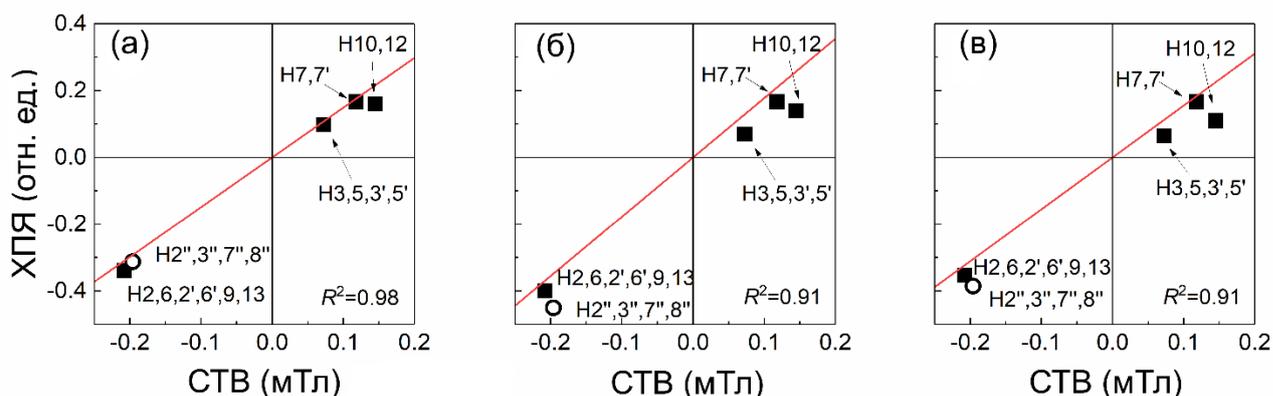


Рисунок 34. Корреляция между интенсивностями сигналов протонов фрагментов ТАА и NDI в спектре ХПЯ с временным разрешением, записанном сразу после приложения лазерного импульса, и рассчитанными квантово-химически значениями констант СТВ для катион радикала этинил-ТАА^{•+} и анион радикала этинил-NDI^{•-}: (а) DOMeA, (б) DMeA, (в) DCIA. Красной линией показана наилучшая аппроксимация данных функцией $P_i = CA_i$

и H7'' практически отсутствуют, предположительно из-за малой величины СТВ. Прямая пропорциональность между величиной СТВ и измеренной интенсивностью сигнала соответствующего протона в спектре ¹H ХПЯ с временным разрешением позволила существенно уменьшить число независимых параметров моделирования полевой зависимости ХПЯ.

Отсутствие ЯМР сигналов побочных продуктов и достаточно большие коэффициенты усиления ЯМР сигналов протонов диады D-X-A в спектре ХПЯ являются следствиями практически полной обратимости реакции переноса электрона. Благодаря этим свойствам удалось измерить полевые зависимости ¹H и ¹³C ХПЯ при естественном содержании магнитных изотопов и извлечь из полученных данных информацию о знаке и величине обменного взаимодействия в состоянии с разделением заряда диад D-X-A.

3.5.2 Полевые зависимости ХПЯ протонов диад D-X-A

Спектры ¹H ХПЯ, полученные после облучения раствора в слабом (10 мТл) поле для всех исследованных диад выглядят схожим образом (рис.35). В слабом поле оказываются поляризованными те же протоны, что и в сильном поле, однако все сигналы имеют общую фазу – усиленное поглощение ($\varepsilon = \frac{P^*}{P_0}$, $\varepsilon(\text{OMe}) < \varepsilon(\text{Me}) < \varepsilon(\text{CN}) < \varepsilon(\text{Cl}) = 78 < 95 < 158 < 315$). В отличие от спектров ХПЯ в

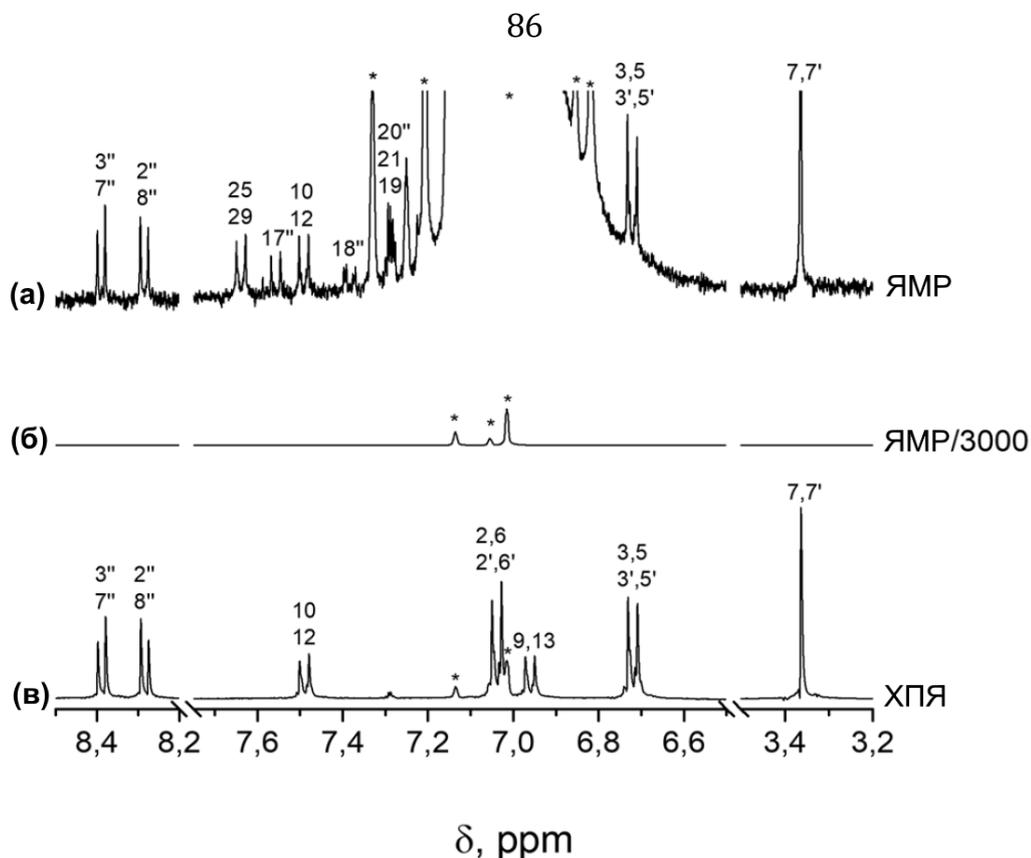


Рисунок 35. (а), (б) – 400 МГц ^1H ЯМР спектр 38 μM раствора DCIA в дейтерированном толуоле, спектр получен после 32 накоплений. (в) 400 МГц ^1H спектр ХПЯ 38 μM раствора DCIA в дейтерированном толуоле (4 накопления), полученный после облучения в течение 0,5 с в поле $B_{\text{pol}} = 21$ мТл. Символом * отмечены сигналы растворителя.

сильном поле, отношение интенсивностей компонент мультиплета в спектре ХПЯ в слабом поле соответствует таковому в обычном ЯМР спектре, поскольку из-за сильной связи протонов в диамагнитном продукте рекомбинации в слабом поле неравновесная поляризация ядер равномерно перераспределяется между протонами, дающими вклад в один мультиплет. Важно отметить, что метильные протоны H7 ($\text{H7}'$) ТАА отличаются от остальных протонов диад D-X-A своей изолированностью – константа скалярного спин-спинового взаимодействия с протонами H3,5 ($\text{H3',5}'$) не превышает 1 Гц. Слабость взаимодействия предотвращает перенос поляризации метильных протонов в слабом магнитном поле.

Механизмы формирования ХПЯ в сильном и слабом полях – различные, что отражается на виде соответствующих спектров ХПЯ. В слабом магнитном поле знак ХПЯ не зависит от знака константы скалярного взаимодействия; он определяется знаком обменного взаимодействия J_{ex} и мультиплетностью состояния с разделением заряда.

Знак эффекта ХПЯ в геминальном спектре в сильном поле, а также данные по магнитному эффекту [132] указывают на преимущественное образование бирадикалов в синглетном состоянии после фотовозбуждения. Для объяснения наблюдаемой в спектре ХПЯ в слабом поле усиленной абсорбции РЧ излучения согласно правилу Каптейна: $\text{sgn}(J) = \Gamma \times \mu$, где Γ – знак поляризации спинов: +1 для усиленной абсорбции и -1 для эмиссии; $\mu = -1$ – для синглетного прекурсора и $\mu = +1$ – для триплетного, необходимо предположить отрицательный знак обменного взаимодействия, соответствующего переходу $S\beta_N \leftrightarrow T\alpha_N$, т.е. уменьшению населённости β_N состояния ядерных спинов в продукте рекомбинации.

Однако, в ранних работах по изучению ХПЯ в слабом поле в ряде гомологичных бирадикалах было показано [91-93], что в большинстве случаев наблюдается триплетная мультиплетность предшественника, и в случае отрицательного обменного взаимодействия наблюдается эффект ХПЯ отрицательного знака (эмиссия). Кроме того, возможны и другие комбинации знаков параметров: в работе [134] исследовалось ХПЯ в слабом поле жёсткого бирадикала – донора электрона диметоксинафталина (DMN) и акцептора электрона дициановинила (DCV), соединённых линкером с жёсткой структурой. В этой системе бирадикалы формируются преимущественно в синглетном состоянии, а обменное взаимодействие – положительное, $J_{ex} > 0$.

Данные по магнитному эффекту диад D-X-A показывают, что лимитирующей стадией гибели триплетных бирадикалов является триплет-синглетная конверсия, которая включает в себя как когерентный (смешивание за счёт СТВ в области пересечения уровней), так и некогерентный (релаксационные процессы) вклады. Для всех диад скорость рекомбинации из синглетного состояния k_S превышала скорость рекомбинации из триплетного состояния k_T минимум на два порядка [132]. При моделировании выяснилось, что положительный знак эффекта ХПЯ (усиленная абсорбция) определяется бирадикалами, рождёнными в триплетном состоянии. Населённость триплетного состояния с разделением заряда для исследуемых диад была ранее определена: DCIA – 39%, DCNA – 12%, DMeA – 3%, DOMEA – около 0% [132]. Было проведено сравнение коэффициента

усиления ЯМР сигналов ($\varepsilon = \frac{P^*}{P_0}$, $\varepsilon(\text{OMe}) < \varepsilon(\text{Me}) < \varepsilon(\text{CN}) < \varepsilon(\text{Cl}) = 78 < 95 < 158 < 315$) и доли бирадикалов в триплетном состоянии (рис.36); видно, что эти параметры находятся в очень хорошей линейной зависимости друг от друга. Таким образом, можно заключить, что именно рождённые в триплетном состоянии бирадикалы ответственны за формирование эффекта ХПЯ в диадах D-X-A. Поскольку энергия локального триплетного состояния больше, чем энергия состояния с разделением заряда [135], наиболее эффективным каналом гибели триплетного состояния бирадикала, отвечающим наблюдаемому знаку эффекта ХПЯ, является индуцированный СТВ переход $T_+\beta_N \rightarrow S\alpha_N$. Этот переход соответствует *положительному* значению обменного взаимодействия J_{ex} , в противоположность его *отрицательному* значению, предсказываемому по правилу Каптейна. Поскольку положительная ХПЯ наблюдалась в том числе для диады DOMeA, было выдвинуто предположение о формировании небольшой, порядка 1%, доли триплетных бирадикалов при фотовозбуждении этой диады.

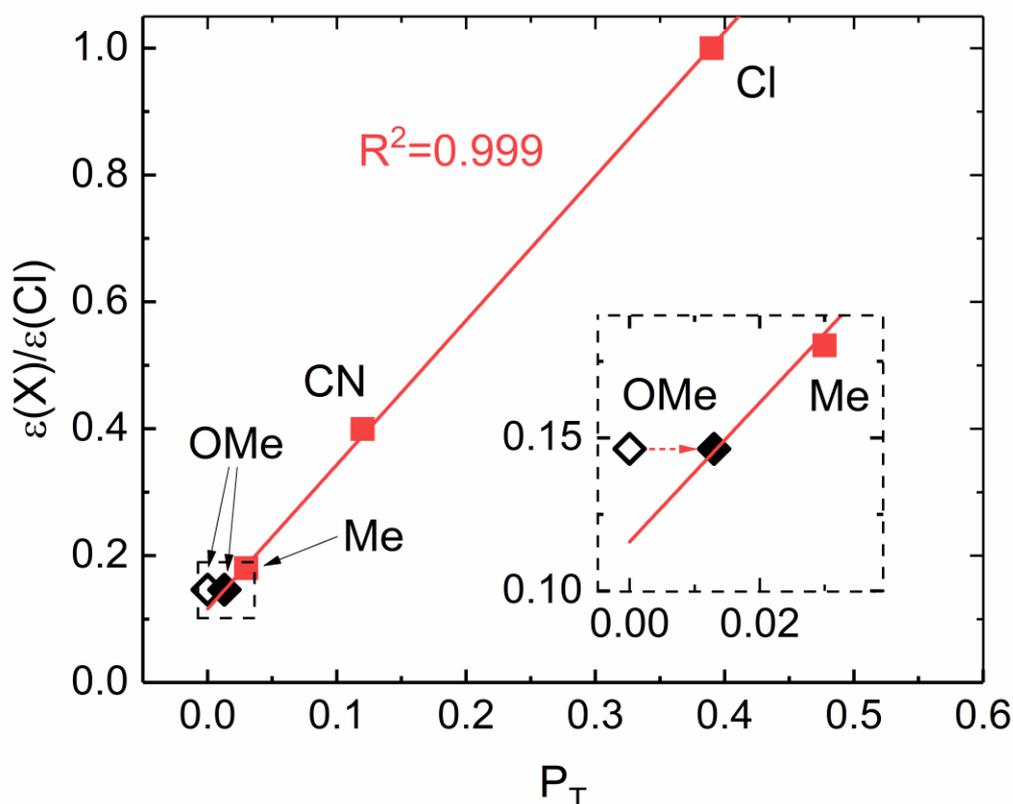


Рисунок 36. Корреляция между относительным коэффициентом усиления ^1H ЯМР сигналов в спектре ХПЯ $\varepsilon(X)/\varepsilon(\text{Cl})$, и долей бирадикалов, рождённых в триплетном состоянии P_T .

Полевые зависимости ХПЯ метильных протонов H7,7', полученные при облучении растворов диад D-X-A, показаны на рис.37. Наблюдаемые полевые зависимости ХПЯ имеют одинаковую форму для всех поляризованных протонов исследуемой диады, с практически совпадающими положениями максимумов, и слабо различающимися шириной на полувысоте. Измеренные полевые зависимости ^1H ХПЯ хорошо аппроксимируются функцией Лоренца, параметры аппроксимации приведены в табл.3. Можно аналитически определить положение антипересечения уровней в системе двух электронов и одного магнитного ядра: $V_{max} = 2|J_{ex}| - A/4$. Это выражение можно использовать для приближённого определения значения обменного взаимодействия $2|J_{ex}|$. СТВ с оставшимися магнитными ядрами (всего в наиболее распространённом изомере бирадикала присутствуют 23 магнитных ядра с ненулевым СТВ: 22 протона и одно ядро ^{14}N) дополнительно сдвигает антипересечение уровней; в результате усреднения по проекциям спинов магнитных ядер итоговая полевая зависимость уширяется по сравнению с модельной зависимостью для одного магнитного ядра. Во всех четырёх диадах наиболее узкую полевую зависимость ХПЯ

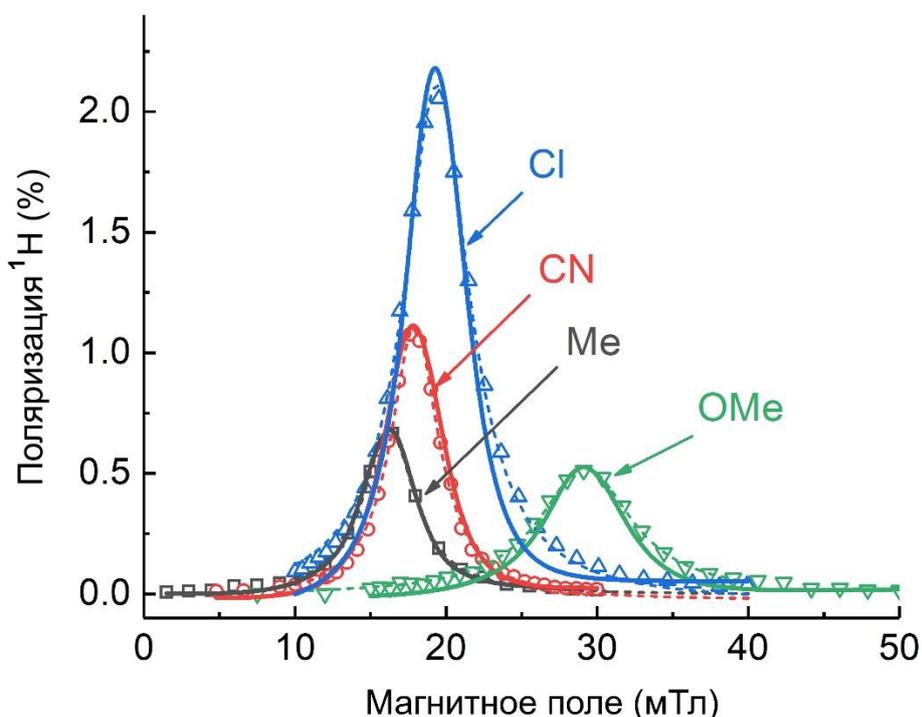


Рисунок 37. Полевые зависимости ХПЯ метильных протонов H7,7' диад D-X-A.

демонстрировали метильные протоны H7,7. Моделирование этих узких полевых зависимостей для системы, явно учитывающей СТВ на 6 протонах и одном азоте, позволило определить наилучшие значения обменного взаимодействия J_{ex} и скорость дефазировки электронов k_{deph} (см. табл.3), а также амплитуду полуклассического поля в положительно заряженном фрагменте TAA^{•+} и отрицательно заряженном фрагменте NDI^{•-} (см. табл.4), с учетом различий в скорости рекомбинации и доле триплетных бирадикалов между диадами. Полученные значения обменного взаимодействия хорошо согласуются с данными оптической спектроскопии [132].

Таблица 3. Параметры, полученные на основе аппроксимации и моделирования полевых зависимостей ХПЯ диад D-X-A.

		$B_{max}^{(a)}/\text{мТл}$	$2J_{ex}^{(b)}/\text{мТл}$	$k_{deph}^{(b)}/\text{нс}^{-1}$	$w_{1/2}^{(a)}/\text{мТл}$	$2J^{(b)}/\text{мТл}$
DMeA	H7,7'	16.2±0.2	16.9±0.2	0.092	4.2±0.1	19±0.5
	H3,5,3',5'				4.7	
	H10,12				4.5	
	H2'',3'',7'',8''				4.6	
DCNA	H7,7'	17.9±0.2	18.9±0.2	0.027	3.9±0.1	21±0.5
	H3,5,3',5'				4.4	
	H10,12				3.9	
	H2'',3'',7'',8''				4.5	
DCIA	H7,7'	19.4±0.2	20.2±0.2	0.058	5.3±0.1	19±0.5
	H3,5,3',5'				6.6	
	H10,12				6.1	
	H2'',3'',7'',8''				6.6	
DOMEA	H7,7'	29.5±0.2	30.1±0.2	0.146	7.2±0.3	30.5±0.5
	H3,5,3',5'				7.9	
	H10,12				7.8	
	H2'',3'',7'',8''				8.1	

^(a) Параметры аппроксимации полевых зависимостей ХПЯ Лоренцевой функцией.

^(b) Параметры, определённые при моделировании полевых зависимостей ХПЯ.

^(в) Значения обменного взаимодействия из работы [132].

Таблица 4. Амплитуды полуклассического поля, создаваемого СТВ с протонами в фрагментах TAA^{•+} и NDI^{•-} бирадикалов диад.

Обозначение	Описание	Значение			
		DCNA	DMeA	DOMEA	DCIA
$ \vec{B}_{TAA}^{SC} $	полуклассическое поле, создаваемое ¹ H СТВ в TAA ^{•+}	1.38 мТл	0.852 мТл	1.23 мТл	1.61 мТл
$ \vec{B}_{NDI}^{SC} $	полуклассическое поле, создаваемое ¹ H СТВ в NDI ^{•-}	0.38 мТл	0.73 мТл	0.815 мТл	1.27 мТл

3.5.3 Полевые зависимости ХПЯ углерода-13 диад D-X-A

Помимо формирования неравновесной поляризации спинов протонов диад D-X-A, ХПЯ формируется и на других магнитных ядрах, количество которых в молекуле определяется естественным содержанием магнитных изотопов атомов. Большие коэффициенты усиления сигналов ЯМР ядер углерода-13 ($\epsilon = \frac{P^*}{P_0}$, $\epsilon(\text{Me}) < \epsilon(\text{CN}) < \epsilon(\text{Cl}) < \epsilon(\text{OMe}) = 175 < 195 < 287 < 492$) позволили измерить полевые зависимости ^{13}C ХПЯ у всех четырех диад: DCNA, DCIA, DMeA и DOMeA при естественном содержании магнитных изотопов. Вероятность присутствия в молекуле диады двух и более атомов углерода-13 при естественном содержании практически равна нулю, и спектр ^{13}C ХПЯ состоит из поляризованных сигналов изотопомеров, различающихся положением атома углерода-13 в молекуле. Для ХПЯ на естественном содержании ^{13}C в отличие от ^1H ХПЯ не происходит когерентного переноса поляризации в слабом поле, как в случае системы сильно связанных протонов в слабом поле. По сравнению с протонным спектром ХПЯ, спектр ХПЯ углерода-13 позволяет дополнить картину распределения спиновой плотности в короткоживущем бирадикале TAA \bullet + -линкер-NDI \bullet -, т.к. существенная часть поляризованных сигналов в спектре ХПЯ углерода-13 соответствует атомам углерода, не связанным с протонами.

^{13}C спектры ХПЯ всех диад выглядят аналогично спектру на рис.38. Изменение заместителя X в линкере слабо влияет на химические сдвиги атомов углерода-13 в ЯМР спектре. Большое количество сигналов поляризованных ядер углерода-13 отражает высокую степень делокализации спиновой плотности неспаренных электронов в состоянии с разделением заряда TAA \bullet + -линкер-NDI \bullet -. В частности, в донорном фрагменте TAA \bullet + заметная доля спиновой плотности распространяется на атомы C14 и C15 в непосредственной близости от линкера *para*-замещённого бензольного кольца. В спектре всех диад не наблюдаются сигналы атомов метильных углеродов TAA, а также углеродов NDI C2'',3'',7'',8''. В то же время, на связанных с этими атомами углерода протонами формируется эффект ХПЯ, что означает наличие электронной плотности на этих фрагментах молекулы. Согласно соотношению Мак-Коннела [136] для ароматических протонов, часть

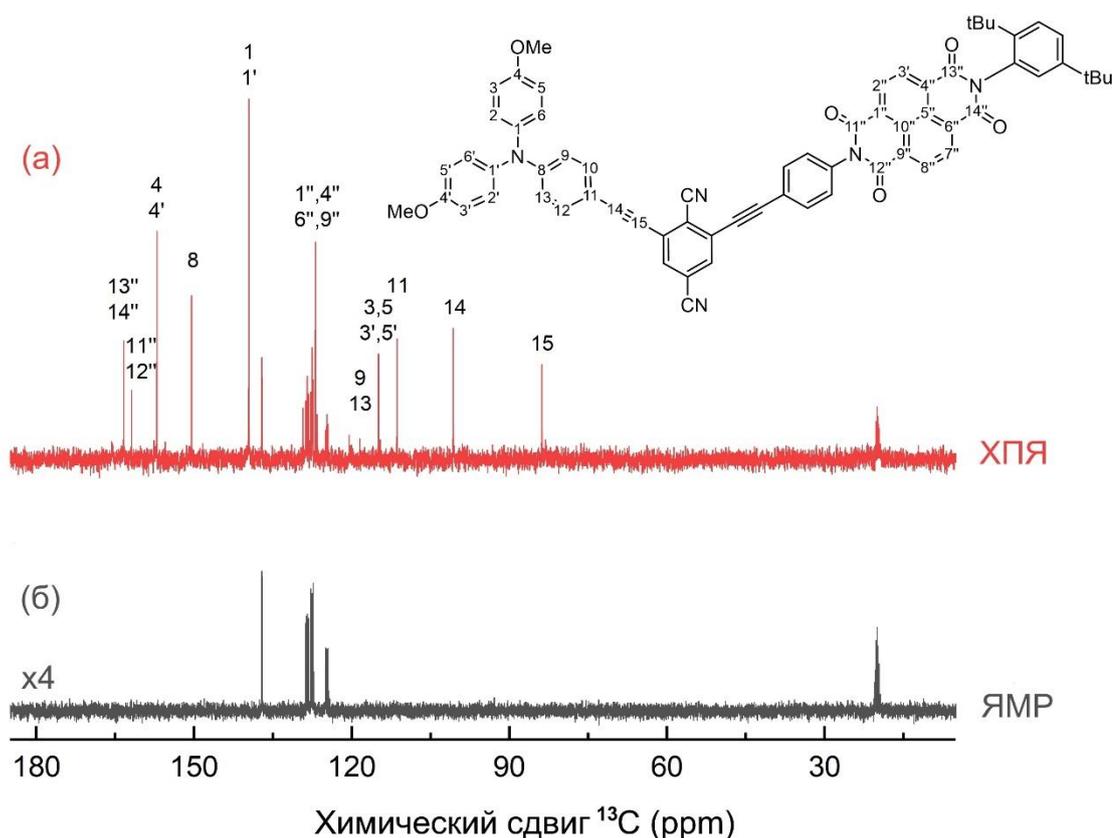


Рисунок 38. (а) 100 МГц ^{13}C ЯМР спектр раствора $1.4 \cdot 10^{-4}$ моль/л DCNA в толуоле-d8 после облучения в поле $B_{pol} = 16.9$ мТл, время облучения 10 секунд, 32 накопления. (б) 100 МГц ^{13}C ЯМР спектр раствора $1.4 \cdot 10^{-4}$ моль/л DCNA в толуоле-d8 в равновесии в поле 9.4 Тл, одно накопление. При записи спектров ССИ прикладывался развязывающий композитный РЧ импульс по протонам.

спиновой плотности должна присутствовать по крайней мере на ядрах углеродов NDI C2'',3'',7'',8''. Вероятной причиной отсутствия сигналов ХПЯ этих углеродов является их короткое время T_1 -релаксации, а также малая амплитуда СТВ.

Для корректного сравнения полевых зависимостей ХПЯ углерода-13 между собой необходима коррекция измеренных полевых зависимостей на потерю намагниченности за время между окончанием облучения образца и записью ЯМР спектра. Основным механизмом релаксации спинов ядер углерода-13 в поле менее 1 Тл является диполь-дипольное взаимодействие с ближайшим магнитным ядром, как правило, протоном. Скорость релаксации спинов по диполь-дипольному механизму падает как шестая степень расстояния между спинами, поэтому спины ядер атомов углерода-13, образующие химические связи с протонами, например, C3,5,3',5', релаксируют за короткое время $T_1 \lesssim 1$ секунды (см. рис.39). Напротив, изолированные от протонов атомы углерода, такие как C15, характеризуются

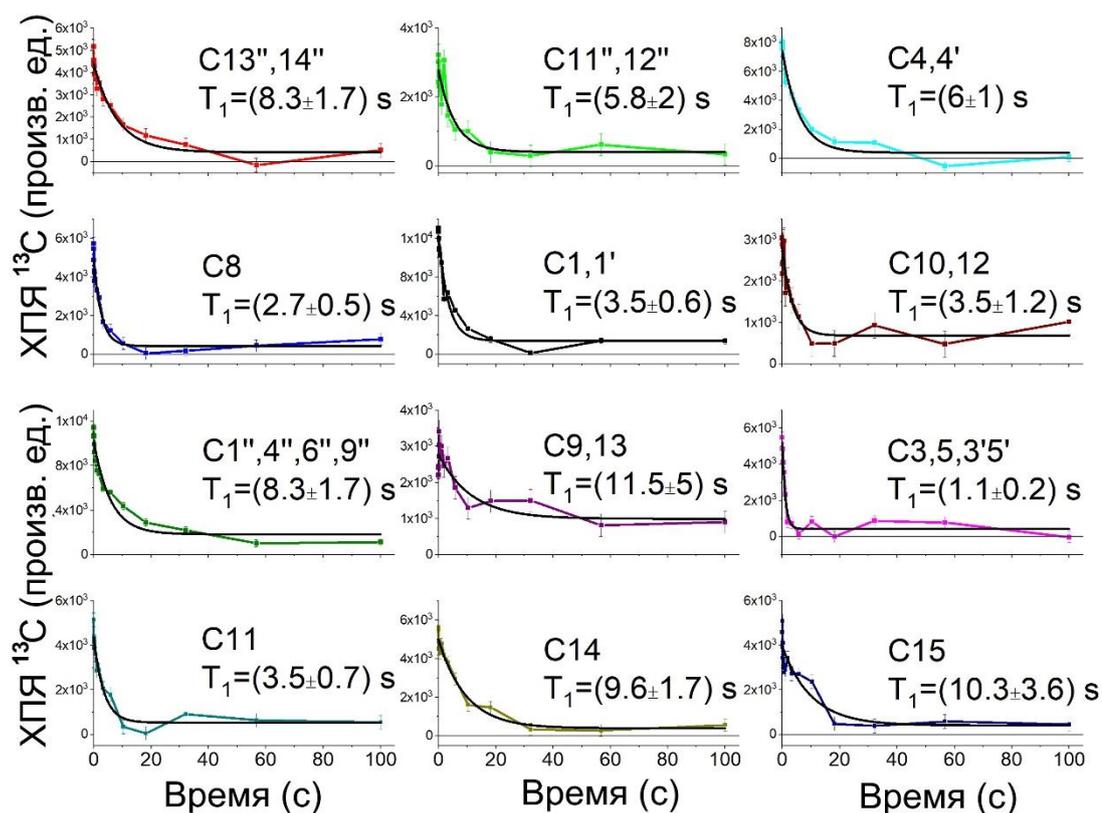


Рисунок 39. Цветные точки, соединённые прямыми линиями - кинетики релаксации спинов ^{13}C диады DCNA. В эксперименте инкрементировалось время, прошедшее после облучения раствора (ось абсцисс) в течение 10 секунд в поле $B_{pol} = 16.9$ мТл. Сплошная чёрная линия на каждом графике соответствует аппроксимации кинетики релаксации спадающей экспоненциальной функцией. Определённое в результате аппроксимации время T_1 релаксации для каждого атома углерода-13 приводится на соответствующих графиках.

длительным временем T_1 релаксации ~ 10 секунд. При длительном облучении раствора формируется динамическое равновесие между созданием ядерной гиперполяризации в результате актов поглощения света молекулами диады, и процессами релаксации созданной неравновесной ядерной поляризации. При одинаковой амплитуде СТВ степень поляризации ядерных спинов сразу после рекомбинации будет одинаковой, но если эти спины характеризуются разными временами T_1 релаксации, то в эксперименте с задержкой между окончанием облучения и регистрацией спектра, в частности, при измерении полевой зависимости ХПЯ, измеряемая поляризация этих спинов окажется различной. Поэтому при определении величин СТВ с ядрами неэквивалентных атомов углерода-13 учитывались различия в скорости релаксации ядерных спинов этих атомов.

Полевые зависимости ^{13}C ХПЯ атомов углерода в различных положениях каждой диады имеют максимум приблизительно в том же поле, соответствующем положению антипересечения уровней $T_+\beta_N \rightarrow S\alpha_N$ (см. рис.40). При этом, полевые зависимости существенно отличаются по форме и амплитуде. Эти различия указывают на то, что в них действительно закодирована информация об амплитуде изотропного и анизотропного СТВ с соответствующим ядром углерода-13. Более того, наблюдаются достаточно существенные различия в форме и амплитуде сигналов атомов углерода в одном и том же положении для разных диад, что отражает влияние заместителя X в линкере на структуру энергетических уровней состояния с разделением заряда $\text{TAA}^{\bullet+}$ -линкер- $\text{NDI}^{\bullet-}$. Из различий между полевыми зависимостями ^{13}C ХПЯ можно на качественном уровне судить об

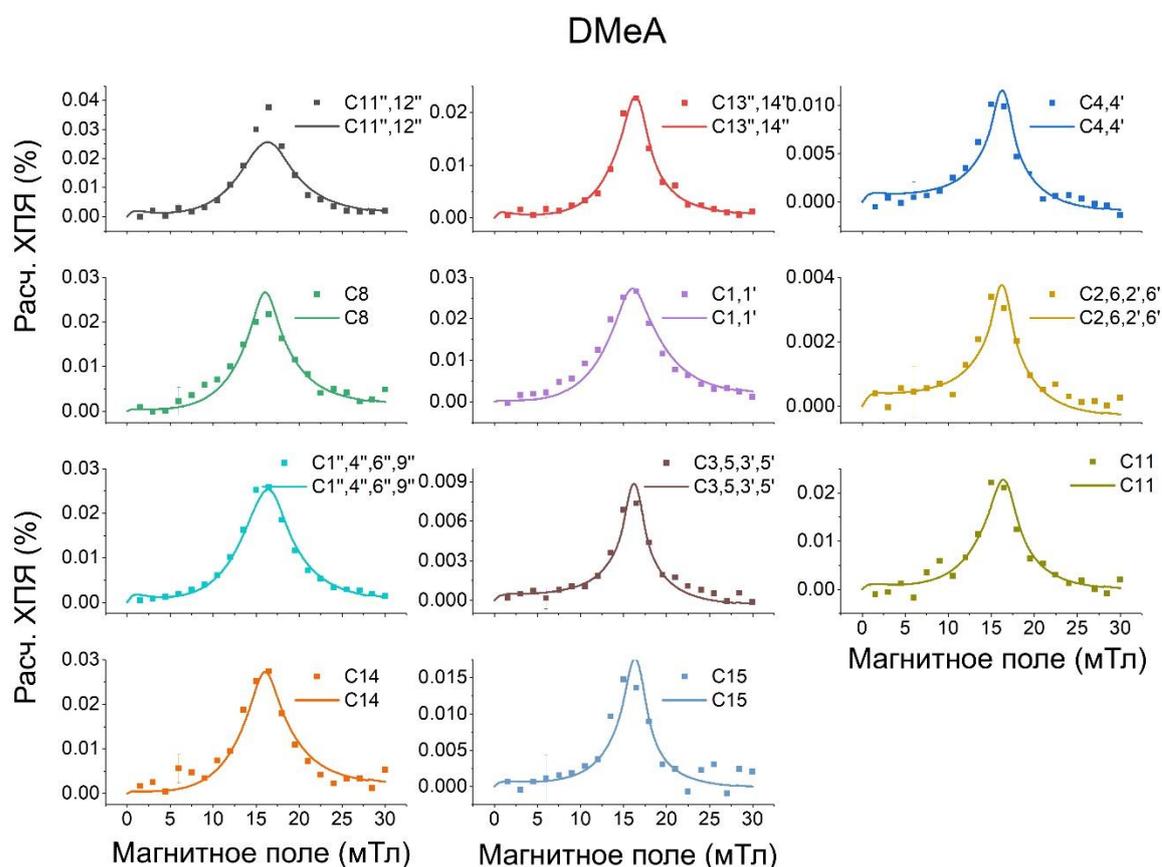


Рисунок 40. Точки – измеренные полевые зависимости ХПЯ углеродов-13 диады DMeA, в расчёте на один атом углерода (в случае наличия эквивалентных положений). Время облучения 10 секунд, 64 накопления на точку. Линии – результат численного моделирования полевой зависимости ХПЯ с использованием самосогласованного набора изотропных констант СТВ и параметров анизотропии, для неэквивалентных положений ядер углерода-13. Экспериментальные данные приводятся в единицах поляризации, нормированной на максимальное расчётное значение эффекта ХПЯ для атома $\text{C1,1}'$.

относительных величинах СТВ: чем больше наблюдаемая амплитуда ХПЯ, тем больше СТВ с этим ядром; увеличение анизотропии СТВ уменьшает амплитуду ХПЯ и ширину полевой зависимости. Для определения численных значений изотропного СТВ и параметра анизотропии требуется численное моделирование измеренных полевых зависимостей, что в случае диад с 22 протонами и одним атомом азота с ненулевыми СТВ является весьма требовательной к вычислительным ресурсам задачей. Алгоритм численного моделирования полевых зависимостей ^{13}C ХПЯ описывается в следующем разделе, определённые с его помощью значения изотропного СТВ и параметра анизотропии СТВ приведены на рис.41 и перечислены в табл.5.

Таблица 5. Определённые посредством численного моделирования полевой зависимости ^{13}C ХПЯ значения изотропного СТВ (a_{iso} , мТл) и параметра анизотропии тензора СТВ ($q_{aniso} = \sqrt{\frac{1}{6} \sum_{i=x,y,z} (a_{ii} - a_{iso})^2}$, мТл). В случае невозможности корректного определения полевой зависимости ХПЯ для некоторых атомов углерода-13 вследствие низкого отношения сигнал/шум или перекрывания с остаточными сигналами растворителя, значения a_{iso} и q_{aniso} определить не удалось, в этих клетках указывается "n/a".

атом ^{13}C	DMeA		DOMEA		DCIA		DCNA	
	a_{iso}	q_{aniso}	a_{iso}	q_{aniso}	a_{iso}	q_{aniso}	a_{iso}	q_{aniso}
C11'',12''	0.55	0.53	0.26	0	0.15	0.13	0.4	0.34
C13'',14''	0.27	0.26	0.17	0.09	0.13	0.17	0.23	0.12
C4,4'	0.11	0.37	0.41	0.53	0.31	0.33	0.81	0.63
C8	-0.38	0.38	-0.75	0.12	-1.38	0	-1.43	0
C1,1'	-0.5	0.57	-0.97	0.6	-1	0	-1.63	0
C5'',10''	n/a	n/a	n/a	n/a	-0.11	0.2	n/a	n/a
C10,12	n/a	n/a	n/a	n/a	-0.13	0.14	-0.24	0.27
C2,6,2',6'	0.04	0.21	0.9	0.13	n/a	n/a	n/a	n/a
C1'',4'',6'',9''	0.47	0.5	0.21	0	0.17	0.15	0.39	0.4
C9,13	n/a	n/a	0.17	0	n/a	n/a	0.17	0.18
C3,5,3',5'	-0.08	0.26	-0.11	0	-1.04	0.55	-0.24	0.25
C11	0.3	0.37	0.4	0.26	0.78	0	1.19	0.24
C14	-0.42	0.4	-0.59	0	-0.44	0	-1.11	0
C15	0.17	0.27	0.26	0.07	0.23	0.18	0.81	0

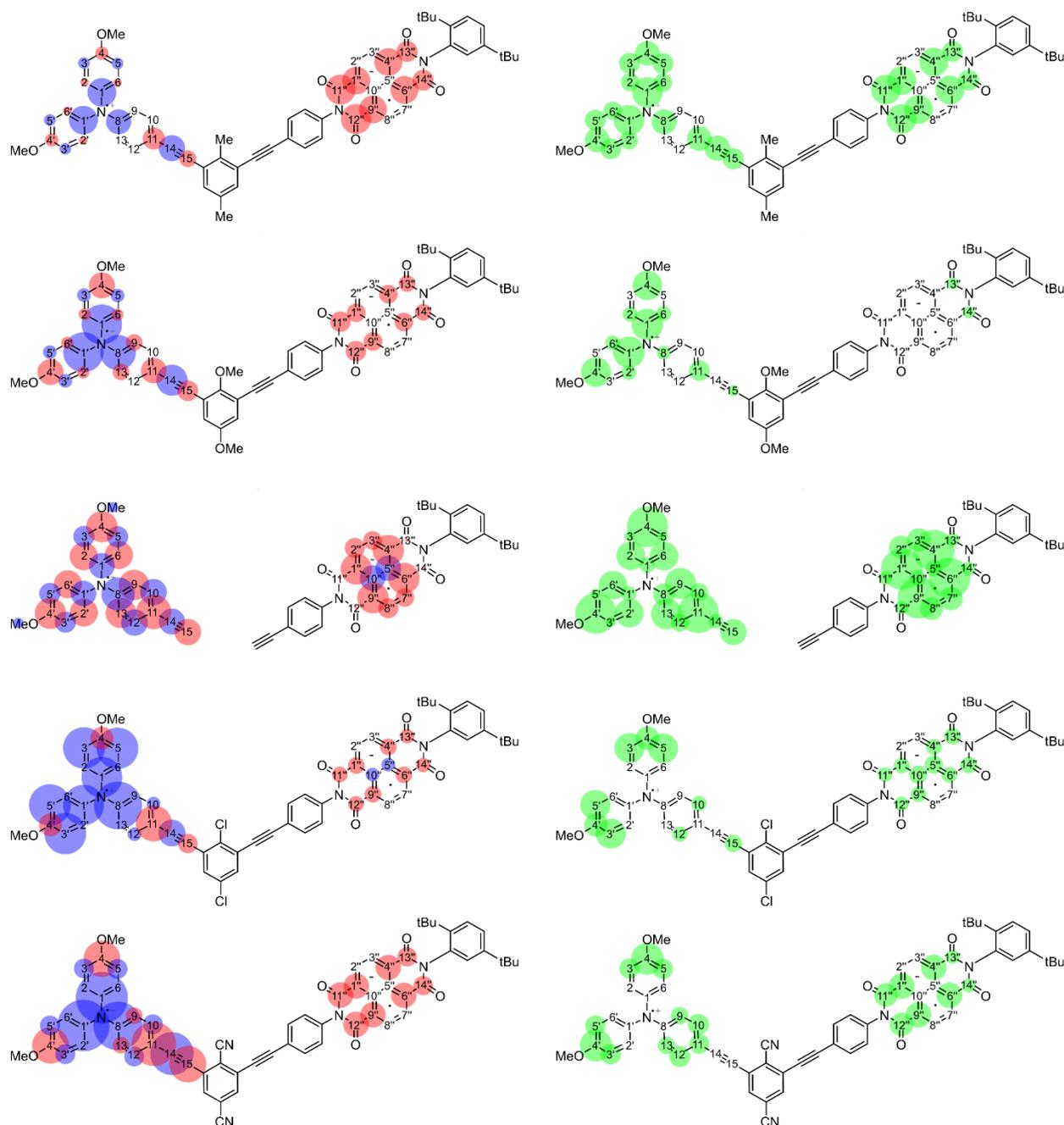


Рисунок 41. Распределение констант изотропного СТВ (слева) и параметра анизотропии СТВ (справа) в состоянии с разделением заряда диад D-X-A, X=Me, OMe, Cl, CN. В третьем ряду для сравнения показаны распределения, полученные в результате DFT расчётов тензоров СТВ на атомах ^{13}C для отдельных монадикалов TAA $^{\bullet+}$ и NDI $^{\bullet-}$.

Ранее в работе [132] было выявлено симбатное увеличение скорости формирования состояния с разделением заряда в диадах D-X-A и усиление электроотрицательности заместителя X в *para*-положении связывающего фрагменты TAA и NDI центрального бензольного кольца. Данные об СТВ на атомах углерода-13 позволяют судить о связи между химическими свойствами заместителя X и распределением спиновой плотности в состоянии с разделением

заряда ТАА^{•+}-линкер-NDI^{•-}. Можно ожидать, что наибольшее влияние на спиновую плотность заместитель X будет оказывать на ближайшие к линкеру атомы углерода, в данном случае составляющие углероды C14, C15 алкильного фрагмента и углерод C11 ближайшего к линкеру бензольного кольца ТАА. Анализ значений изотропного СТВ на спинах ядер этих атомов показывает, что одновременно с усилением акцепторных свойств заместителя X в ряду Me<OMe<Cl<CN увеличивается и величина СТВ; этот эффект наиболее явно проявляется для атома C11. Для акцепторного фрагмента NDI^{•-} усиление акцепторных свойств заместителя X наоборот, сопровождается уменьшением величины СТВ на ядре атомов углерода-13 в положениях C1'',4'',6'',9'' (исключение составляет DCNA).

Чтобы охарактеризовать влияние заместителя X на распределение спиновой плотности в целом, была посчитана сумма квадратов констант изотропного СТВ на всех атомах углерода-13 $a^2 = \sum_i a_{i,iso}^2$, отдельно для фрагментов ТАА^{•+} и NDI^{•-}, по общему для всех диад набору положений атомов углерода (см. табл.6). Эти данные указывают на увеличение спиновой плотности на рассматриваемых атомах углерода ТАА^{•+} одновременно с усилением акцепторных свойств заместителя X в линкере. Для анионного фрагмента NDI^{•-} явная зависимость от акцепторных свойств заместителя X не наблюдается, вероятно, из-за деструктивного эффекта, оказываемого либрацией связывающего линкер и нафталиновый фрагмент незамещённого бензольного кольца. В сумме квадратов констант СТВ во всём бирадикале преобладает влияние катионного фрагмента ТАА^{•+}.

Таблица 6. Сумма квадратов констант изотропного СТВ, посчитанная по данным табл.5. Для мономеров приведены значения, рассчитанные на основе определённых методами квантовой химии значений тензоров СТВ на атомах углерода.

	DMeA	DOMeA	monomers	DCIA	DCNA
a^2 , [мТл ²]	1.29	2.4	2.17	4.99	9.1
$a_{ТАА}^2$, [мТл ²]	0.705	2.27	1.82	4.93	8.74
a_{NDI}^2 , [мТл ²]	0.591	0.139	0.354	0.066	0.365

3.5.4 Моделирование динамики спинов ядер протонов и углерода-13 в бирадикалах с фиксированным обменным взаимодействием

За основу для разработки программы для моделирования ПЗ ХПЯ протонов и углерода-13 диад D-X-A была взята написанная ранее д.ф.-м.н. Н.Н. Лукзенем программа, моделирующая кинетику магнитного эффекта в рассматриваемых диадах [99]. Динамика спинов электронов и ядер моделировалась путем численного решения стохастического уравнения Лиувилля-фон-Неймана (11) в среде Matlab.

В состоянии с разделением заряда диад D-X-A 22 протона (18 в доноре ТАА и 4 в акцепторе NDI) имеют ненулевое СТВ. Моделирование спиновой динамики, основанное на полном квантово-механическом учёте взаимодействий со всеми магнитными ядрами, требует очень больших затрат оперативной памяти и машинного времени. Более экономичным с точки зрения затрат времени и вычислительных ресурсов является полуклассический подход [100, 101], в котором точное квантово-механическое описание СТВ с большим количеством магнитных ядер заменяется на описание СТВ путём введения поправки к основному магнитному полю – вектора локального магнитного поля с амплитудой

$|\vec{B}_k^{SC}| = \sqrt{2 \langle \vec{B}_L^2 \rangle}$, см. выражение (12). Из спектров ^1H ХПЯ в сильном поле известны *отношения* констант СТВ на всех протонах. Следовательно, свободным параметром является значение только одной константы.

С использованием полуклассического приближения фрагмент гамильтониана, описывающий сверхтонкое взаимодействие, принимает следующий вид:

$$H_{HFI} = \sum_i a_i \vec{I}_{i,1} \vec{S}_1 + \sum_j a_j \vec{I}_{j,2} \vec{S}_2 + \gamma_e \vec{B}_{TAA}^{SC} \vec{S}_1 + \gamma_e \vec{B}_{NDI}^{SC} \vec{S}_2 \quad (20)$$

где суммы по i и по j берутся только для ядер, у которых требуется численно рассчитать величину эффекта ХПЯ. Первый член в выражении (20) для всех вариантов проведения расчётов содержит СТВ с ядром ^{14}N азота донора электрона ТАА величиной 0.93 мТл – наибольшим СТВ в состоянии с разделением зарядов диад D-X-A. Кроме изотропного СТВ ядро ^{14}N ТАА характеризуется и анизотропным

СТВ, модуляция которого вносит существенный вклад в скорость релаксации электронных спинов.

Для описания реакции обратного переноса электрона использовалось данное Хаберкорном определение супероператора химической реакции [105]. Как уже указывалось выше, значения констант скоростей рекомбинации для диад D-X-A были заранее определены в результате экспериментов по изучению магнитного эффекта в этих диадах [132].

После применения к уравнению (11) преобразования Лапласа несложно получить выражение для Лаплас-образа матрицы плотности:

$$\hat{\sigma}(s) = (s - \hat{L} - \hat{R} - \hat{K})^{-1} \hat{\sigma}(0) \quad (21)$$

Поскольку длительность облучения на много порядков превышала время жизни бирадикала, можно ограничиться решением, соответствующем пределу $t \rightarrow \infty$, т.е. определению стационарного значения ХПЯ. Это решение легко получить, заметив, что из определения Лаплас-образа $\hat{\sigma}(s)$, $\hat{\sigma}(0) = \hat{\sigma}(\infty)$. Поляризация спинов ядер рассчитывалась по формуле:

$$\langle I_z \rangle = Tr \left(\hat{I}_z \hat{K} \hat{\sigma}(0) \right) \quad (22)$$

Итоговое значение величины эффекта ХПЯ определялось после усреднения результатов расчёта по всем возможным ориентациям векторов полуклассического поля в доноре и акцепторе \vec{B}_{TAA}^{SC} и \vec{B}_{NDI}^{SC} .

Супер-оператор \hat{K} , описывающий в уравнении (21) Лиувилля-фон-Неймана процессы релаксации спинов электронов и ядер в состоянии с разделением заряда, включает в себя три вклада: 1) дефазировку синглет-триплетных когерентностей в результате случайного изменения величины обменного взаимодействия из-за относительного движения фрагментов бирадикала, содержащих неспаренные электроны – k_{deph} ; 2) релаксацию спинов электронов и ядер, вызванную флуктуацией анизотропного СТВ из-за вращения бирадикала в растворе; 3) не зависящую от магнитного поля спин-решёточную и спин-спиновую релаксацию электронов, феноменологически учитывающую вклад от других механизмов релаксации параметром T_1 . Вклады (1) и (3) в релаксационный супероператор не зависят от состояния ядерных спинов. Скорость релаксации спинов, вызванная стохастически меняющимся анизотропным СТВ, рассчитывалась по теории

Редфилда [104]. Выражения для спиновых операторов и соответствующие корреляционные функции для описания релаксации, вызванной анизотропным СТВ, были получены в работе [102]. Учёт этого механизма необходим для корректного моделирования полевой зависимости ХПЯ ядер с большим параметром анизотропии СТВ – ядер ^{14}N и ^{13}C .

Размерность пространства Лиувилля быстро растёт с увеличением количества магнитных ядер и выражается в соответствующем росте затрат оперативной памяти и длительности вычислений. Для моделирования полевой зависимости ХПЯ использовался гибридный подход, основанный на точном квантово-механическом и приближённом полуклассическом учёте СТВ. Для численного моделирования полевой зависимости ХПЯ протонов $\text{H}_{7,7'}$ СТВ с шестью эквивалентными метильными протонами ТАА учитывалось квантово-механически, в то время как СТВ с остальными протонами (12 в ТАА и 4 в NDI) учитывалось полуклассическим способом, согласно уравнению (12). При проведении последовательных итераций расчёта полевой зависимости ^1H ХПЯ, численные значения величин: СТВ с метильными протонами $A_{\text{H}_{7,7'}}$, обменного взаимодействия J_{ex} и скорость дефазировки k_{deph} оптимизировались таким образом, чтобы вычисленная полевая зависимость ХПЯ метильных протонов $\text{H}_{7,7'}$ наилучшим образом соответствовала измеренной полевой зависимости. При каждом изменении величины СТВ $A_{\text{H}_{7,7'}}$ через соотношения между константами СТВ, определёнными по спектрам геминального ХПЯ в сильном поле, пересчитывались амплитуды полуклассических полей $\vec{B}_{\text{ТАА}}^{SC}$ и $\vec{B}_{\text{NDI}}^{SC}$. Выбор для моделирования полевой зависимости протонов $\text{H}_{7,7'}$ обусловлен следующими соображениями: 1) наименьшая ширина полевой зависимости ХПЯ этих протонов по сравнению с ПЗ ХПЯ других протонов диад, и 2) отсутствие значимого скалярного взаимодействия с другими протонами, приводящего к перераспределению поляризации в слабом поле. Следуя описанному подходу, были определены значения параметров $A_{\text{H}_{7,7'}}$, J_{ex} и k_{deph} (см. табл.3). Значения параметров: не зависящей от поля времени релаксации T_1 , населённости синглетного p_S и триплетного p_T состояний с разделением заряда сразу после фотовозбуждения, скорости рекомбинации зарядов в синглетном k_S и триплетном

состояниях k_T были взяты из работы [132]. Хотя рассчитанные численно полевые зависимости ХПЯ описывают измеренную полевую зависимость ХПЯ протонов H7,7' чуть хуже, чем простая аппроксимация Лоренцовой функцией (см. рис.37), эти расчёты позволили определить значение обменного взаимодействия $2J_{ex}$, которые отличаются в бóльшую сторону от значений, соответствующих центру аппроксимирующей Лоренцовой функции B_{max} на 0.7-0.8 мТл. Более того, расчётный уровень поляризации количественно согласуется с наблюдаемым, в частности, он отражает линейную зависимость поляризации от доли бирадикалов, рождённых в триплетном состоянии.

Для получения информации о распределении спиновой плотности по углеродному остову в короткоживущих бирадикалах TAA^{•+}-линкер-NDI^{•-} было проведено численное моделирование всех измеренных полевых зависимостей ¹³C ХПЯ. В отличие от протонов, для которых из спектра геминального эффекта ХПЯ известно соотношение между константами СТВ, для СТВ с ядрами углерода-13 эта информация недоступна. Поэтому, для получения самосогласованного набора параметров тензора СТВ со спинами ядер углерода-13 производилось глобальное моделирование всех полевых зависимостей ¹³C ХПЯ выбранной диады с общим нормировочным коэффициентом перевода между естественными единицами поляризации, получаемыми при численном расчёте, и измеренными интенсивностями ЯМР сигналов, значения которых связаны с величиной электродвижущей силы, создаваемой ядерными спинами в РЧ катушке датчика ЯМР во время записи спада свободной индукции. Перед проведением моделирования измеренные полевые зависимости ¹³C ХПЯ нормировались на количество эквивалентных положений атома углерода-13, дающих вклад в сигнал ЯМР. В результате, оставшиеся различия в амплитуде и форме полевых зависимостей отражают различие в значениях изотропного СТВ и параметра анизотропии СТВ со спином ядра атома углерода-13 в различных положениях.

При расчёте полевой зависимости ¹³C ХПЯ квантово-механически описывалось СТВ с одним ядром углерода-13 и одним ядром азота-14. Последнее соответствует ядру центрального атома азота фрагмента TAA, имеющего константу изотропного СТВ 0.93 мТл и параметр анизотропии СТВ 1.76 мТл. Параметры изотропного и анизотропного СТВ со спином ядра атома углерода-13

являются переменными, определяющими амплитуду и форму рассчитываемой полевой зависимости ХПЯ. СТВ с 18 протонами фрагмента ТАА и 4 протонами фрагмента NDI описывалось в полуклассическом приближении (значения амплитуд указаны в табл.4), усреднение ориентации векторов полуклассического поля производилось по 18 значениям полярного угла от 0° до 180° .

На первом этапе производился подбор значений изотропного СТВ и параметра анизотропии СТВ для атома C1,1', при котором рассчитанная полевая зависимость ХПЯ наилучшим образом соответствует измеренной. Выбор для этих целей атома C1,1' вызван тем, что атом углерода-13 в этом положении создаёт наиболее интенсивный сигнал в спектре ХПЯ, и можно ожидать, что это положение соответствует наибольшему СТВ со спином ядра углерода-13. На первой итерации расчёта использовались значения параметров СТВ со спином ядра атома углерода-13, определённые методами квантовой химии для монарадикалов ТАА \bullet и NDI \bullet . Эффект ХПЯ рассчитывался при тех же напряжённостях магнитного поля, при которых производились его измерения. На каждой итерации коэффициент нормировки рассчитывался как отношение измеренной максимальной интенсивности эффекта ХПЯ углерода C1,1' к текущему максимальному рассчитанному значению, после чего определялось невязка – сумма по всем значениям магнитного поля квадратов отклонения рассчитанной интенсивности ХПЯ от измеренной. После некоторого числа итераций с целью минимизации невязки в автоматическом режиме симплексным методом (использовалась функция *fminsearch* программного пакета Matlab R2014a) определялись оптимальные значения изотропного СТВ и параметра анизотропии СТВ для атома C1,1', а также соответствующее им значение коэффициента пересчёта поляризации из естественных единиц в измеренные на ЯМР спектрометре значения.

Далее, при фиксированном значении коэффициента перевода производился последовательный поиск параметров СТВ для всех оставшихся неэквивалентных положений атома углерода-13 выбранной диады. В качестве нулевого приближения, на первой итерации брались значения параметров СТВ, рассчитанные методами квантовой химии для соответствующих положений атома углерода-13 в монарадикалах ТАА \bullet и NDI \bullet . Как и в случае моделирования полевой зависимости ХПЯ углерода C1,1', минимизировалось суммарное отклонение

рассчитанного значения ^{13}C ХПЯ от измеренного в диапазоне полей, где наблюдается ненулевой эффект ХПЯ углерода C1,1'. Таким образом был определён самосогласованный набор параметров СТВ со спинами ядер атомов углерода-13 диад DMeA, DOMeA, DCIA и DCNA, полученные значения изотропного СТВ и параметра анизотропии СТВ представлены в табл.6. Соответствие между измеренными и рассчитанными при оптимальных значениях параметров тензора СТВ полевыми зависимостями ХПЯ углерода-13 диады DMeA изображено на рис.40, для остальных диад – в приложении 1.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Обнаружено формирование долгоживущих состояний в спиновых системах ^{13}C - ^1H , и ^{13}C - $^1\text{H}_3$ метилпропиолата. Был объяснён механизм формирования долгоживущих состояний и разработан способ численного моделирования их проявления в стандартном спектре ЯМР в сильном поле. Разработан косвенный способ получения спектров ЯМР в нулевом поле, с его помощью исследовано поведение гетероядерных нуль-квантовых когерентностей в ультраслабом поле в спиновых системах ^{13}C - ^1H , ^{13}C - $^1\text{H}_2$, и ^{13}C - $^1\text{H}_3$ изотопомеров метилпропиолата. На основе косвенного способа получения спектров ЯМР в нулевом поле разработан способ корреляции сигналов в стандартном спектре ЯМР высокого разрешения и спектров ЯМР нулевого поля. Также, разработан и запатентован способ полной корреляции сигналов всех магнитных ядер в стандартном спектре ЯМР высокого разрешения с использованием изотропного смешивания спинов в ультраслабом поле – ZULF TOCSY, обладающий потенциалом для практического применения, например, разделения ЯМР сигналов в сложной смеси веществ, а также для проведения последовательного отнесения ЯМР сигналов коротких пептидов и схожих с ними по химической структуре веществ.

Экспериментальные данные о динамике спинов электронов и ядер короткоживущих бирадикалов, получаемые методом ХПЯ с переключением поля, позволяют получить информацию о структуре бирадикала: распределении электронной плотности, его конформации, величине и знаках магнитных взаимодействий. Измерение зависимости эффекта ХПЯ от магнитного поля методом быстрого переключения поля позволяет получать количественную информацию об обменном взаимодействии в бирадикалах - короткоживущих интермедиадах фотохимических превращений, таких как биологически-активные вещества и перспективные органические материалы для фотоэлектрических преобразователей.

В рамках диссертационной работы были проведены измерения полевой зависимости эффекта ХПЯ на протонах в обратимой реакции фотовозбуждения

ФАД в водном растворе, подтвердившие наблюдения Стоба и соавторов об участии радикала аденина в реакции фотоиндуцируемого переноса электрона. Моделирование полевой зависимости ХПЯ протонов ФАД в предположении гибкого бирадикала $F^{\bullet}-L-A^{\bullet+}$ указывает на широкое распределение по расстояниям между радикальными центрами. Для использованных в работе значений параметров, описывающих зависимость обменного взаимодействия от расстояния, максимальное и минимальное расстояния между радикальными центрами различаются практически в два раза. Опровергнута гипотеза о существовании двух различающихся конформаций бирадикала, показана необходимость использования непрерывной функции распределения по расстояниям.

Измерения эффекта ХПЯ на протонах и углероде-13 диад донор-линкер-акцептор D-X-A (X=Me, OMe, CN, Cl) позволили выявить высокую степень делокализации электронной плотности в фотовозбуждённом состоянии с разделением заряда, как в электрон-донорном фрагменте ТАА, так и в акцепторе электрона NDI. В результате моделирования ПЗ ХПЯ метильных протонов донора электронов ТАА в рамках приближения жёсткой структуры бирадикала был определен положительный знак обменного взаимодействия для всех изученных диад. Было установлено, что амплитуда эффекта ХПЯ на протонах пропорциональна доли бирадикалов $D^{\bullet+}-X-A^{\bullet-}$, рождённых в триплетном состоянии. Определены значения параметров моделирования: скорость дефазировки синглет-триплетных когерентностей k_{deph} , амплитуда обменного взаимодействия $2J_{ex}$, величины констант СТВ на протонах. В дальнейшем значения параметров моделирования использовались при анализе ПЗ ^{13}C ХПЯ диад, что позволило детально определить константы СТВ протонов и ^{13}C в состоянии с разделением заряда и выявить их связь с электроотрицательностью заместителя X в линкере

ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ВЫВОДЫ

- 1) Установлен механизм формирования долгоживущих спиновых состояний в гетероядерных спиновых системах ^{13}C - ^1H и ^{13}C - $^1\text{H}_3$ при адиабатическом переходе в ультраслабое магнитное поле.
- 2) Разработан способ косвенного детектирования спектров ЯМР в нулевом поле. Этот способ позволяет получать двумерный спектр корреляции сигналов в стандартном спектре ЯМР высокого разрешения и спектров ЯМР в нулевом поле для отдельных фрагментов молекулы.
- 3) Разработан и запатентован метод полной корреляции сигналов в стандартном спектре ЯМР высокого разрешения всех взаимодействующих магнитных ядер в результате смешивания в ультраслабом магнитном поле.
- 4) На основе моделирования полевой зависимости ХПЯ протонов флавинадениндинуклеотида получена оценка для расстояния между неспаренными электронами в короткоживущем бирадикале и опровергнута гипотеза о существовании двух конформаций бирадикала ФАД.
- 5) На основе исследования зависимости ХПЯ от магнитного поля для четырех структурно жестких диад донор-линкер-акцептор был установлен положительный знак и величина электронного обменного взаимодействия в фотоиндуцированном состоянии с разделением заряда. Были получены детальные данные о сверхтонком взаимодействии для протонов и ядер ^{13}C в этом состоянии.

СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ СОКРАЩЕНИЙ

РЧ: радиочастота, радиочастотный

PHIP: parahydrogen induced polarization, индуцированная параводородом поляризация ядер

ИППЯ: см. PHIP

SABRE: signal amplification by reversible exchange, усиление сигналов в результате обратимого обмена

ДПЯ: динамическая поляризация ядер

ХПЯ: химическая поляризация ядер

MARY: magnetic field affected reaction yield, магнитный эффект

EPR: electron magnetic resonance, электронный парамагнитный резонанс

OD EPR: optically detected EPR, оптически детектируемый ЭПР

ZULF NMR: zero- to ultralow field NMR, ЯМР в нулевом и ультраслабом поле

LAC: Level Avoided Crossing, антипересечение уровней

NMRD: nuclear magnetic relaxation dispersion, дисперсия ядерной спиновой релаксации

CSA: chemical shift anisotropy, анизотропия химического сдвига

ppm: parts-per-million, миллионная доля (10^{-6})

ТТЛ: транзисторно-транзисторная логика

LED: light-emitting diode, светодиод

ССИ: спад свободной индукции (ядер)

FID – Free Induction Decay, см. ССИ

СТВ: сверхтонкое взаимодействие

ИКК: интеркомбинационная конверсия

РП: радикальная пара

ПЗ: полевая зависимость

СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. **Ernst, R. R.** Principles of nuclear magnetic resonance in one and two dimensions. The International series of monographs on chemistry. / R. R. Ernst, G. Bodenhausen, A. Wokaun. – Oxford: Oxford University Press, New York: Clarendon Press, 1987. – 596 p. – ISBN 0198556292.
2. **Levitt, M. H.** Spin dynamics : basics of nuclear magnetic resonance-2nd ed. / M. H. Levitt. – Chichester: John Wiley & Sons Ltd, 2008. – 714 p. – ISBN 978-0-470-51118-3.
3. **Günther, H.** NMR spectroscopy : basic principles, concepts, and applications in chemistry. / H. Günther. – 3rd ed. – Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2013. – 718 p. – ISBN 978-3-527-33000-3.
4. **Keeler, J.** Understanding NMR spectroscopy. / J. Keeler. – Chichester: John Wiley & Sons Ltd, 2005. – 459 p. – ISBN 0470017872.
5. **Cavanagh, J.** Protein NMR spectroscopy : principles and practice. / J. Cavanagh. – 2nd ed. – Amsterdam; Boston: Academic Press, 2007. – 885 p. – ISBN 9780121644918.
6. **Jeener, J.** "Pulse pair technique in high resolution NMR" a reprint of the historical 1971 lecture notes on two-dimensional spectroscopy. / J. Jeener, G. Alewaeters. // Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy. – 2016. – Vol. 94-95. – P. 75-80.
7. **Aue, W.** Two-dimensional spectroscopy. Application to nuclear magnetic resonance / W. Aue, E. Bartholdi, R. R. Ernst // The Journal of Chemical Physics. – 1976. – Vol. 64, № 5. – P. 2229-2246.
8. **Lauterbur, P. C.** Image Formation by Induced Local Interactions: Examples Employing Nuclear Magnetic Resonance / P. C. Lauterbur // Nature. – 1973. – Vol. 242, № 5394. – P. 190-191.
9. **Rabi, I. I.** A new method of measuring nuclear magnetic moment / I. I. Rabi, J. R. Zacharias, S. Millman, P. Kusch // Physical Review. – 1938. – Vol. 53, № 4. – P. 318.
10. **Walker, T. G.** Spin-exchange optical pumping of noble-gas nuclei / T. G. Walker, W. Happer // Reviews of Modern Physics. – 1997. – Vol. 69, № 2. – P. 629.
11. **Overhauser, A. W.** Polarization of Nuclei in Metals / A. W. Overhauser // Physical Review. – 1953. – Vol. 92, № 2. – P. 411-415.
12. **Abragam, A.** Principles of dynamic nuclear polarisation / A. Abragam, M. Goldman // Reports on Progress in Physics. – 1978. – Vol. 41, № 3. – P. 395.
13. **Bowers, C. R.** Parahydrogen and synthesis allow dramatically enhanced nuclear alignment / C. R. Bowers, D. P. Weitekamp // Journal of the American Chemical Society. – 1987. – Vol. 109, № 18. – P. 5541-5542.

14. **Natterer, J.** Parahydrogen induced polarization / J. Natterer, J. Bargon // Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy. – 1997. – Vol. 31, № 4. – P. 293-315.
15. **Barskiy, D. A.** SABRE: Chemical kinetics and spin dynamics of the formation of hyperpolarization / D. A. Barskiy, S. Knecht, A. V. Yurkovskaya, K. L. Ivanov // Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy. – 2019. – Vol. 114-115. – P. 33-70.
16. **Bargon, J.** Nuclear magnetic resonance emission lines during fast radical reactions. I. Recording methods and examples / J. Bargon, H. Fischer, U. Johnsen // Zeitschrift fuer Naturforschung, A: Physical Sciences. – 1967. – Vol. 22, № 10. – P. 1551-5.
17. **Ward, H. R.** Nuclear Magnetic Resonance Emission and Enhanced Absorption in Rapid Organometallic Reactions / H. R. Ward, R. G. Lawer // Journal of the American Chemical Society. – 1967. – Vol. 89, № 21. – P. 5518-5519.
18. **Sjolander, T. F.** ¹³C-Decoupled J-Coupling Spectroscopy Using Two-Dimensional Nuclear Magnetic Resonance at Zero-Field / T. F. Sjolander [et al.] // Journal of Physical Chemistry Letters. – 2017. – Vol. 8, № 7. – P. 1512-1516.
19. **Weitekamp, D. P.** Zero-Field Nuclear Magnetic-Resonance / D. P. Weitekamp [et al.] // Physical Review Letters. – 1983. – Vol. 50, № 22. – P. 1807-1810.
20. **Ledbetter, M. P.** Optical detection of NMR J-spectra at zero magnetic field / M. P. Ledbetter [et al.] // Journal of Magnetic Resonance. – 2009. – Vol. 199, № 1. – P. 25-29.
21. **Ledbetter, M. P.** Near-Zero-Field Nuclear Magnetic Resonance / M. P. Ledbetter [et al.] // Physical Review Letters. – 2011. – Vol. 107, № 10. – P. 107601.
22. **Fischer, H.** Chemically Induced Dynamic Nuclear Polarization during Thermal Decomposition of Peroxides and Azo Compounds / H. Fischer, J. Bargon // Accounts of Chemical Research. – 1969. – Vol. 2, № 4. – P. 110.
23. **Kaptein, R.** Carbon-13 CIDNP from biradicals in the photolysis of cyclic ketones / R. Kaptein, R. Freeman, H. D. W. Hill // Chemical Physics Letters. – 1974. – Vol. 26, № 1. – P. 104-107.
24. **Roth, H. D.** Chemically induced dynamic nuclear polarization as a tool in mechanistic photochemistry / H. D. Roth // Molecular Photochemistry. – 1973. – Vol. 5, № 1. – P. 91-126.
25. **Hore, P. J.** Cross-Relaxation Effects in the Photo-CIDNP Spectra of Amino-Acids and Proteins / P. J. Hore, M. R. Egmond, H. T. Edzes, R. Kaptein // Journal of Magnetic Resonance. – 1982. – Vol. 49, № 1. – P. 122-150.
26. **Stob, S.** Photo-CIDNP of the Amino-Acids / S. Stob, R. Kaptein // Photochemistry and Photobiology. – 1989. – Vol. 49, № 5. – P. 565-577.
27. **Siebert, H.-C.** Role of aromatic amino acids in carbohydrate binding of plant lectins: laser photo chemically induced dynamic nuclear polarization study of hevein domain-containing lectins / H.-C. Siebert [et al.] // Proteins: Structure, Function, and Genetics. – 1997. – Vol. 28, № 2. – P. 268-284.

28. **Kaptein, R.** Photo-CIDNP in nucleic acid bases and nucleotides / R. Kaptein, K. Nicolay, K. Dijkstra // *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications*. – 1979. – Vol. 23. – P. 1092-1094.
29. **Morozova, O. B.** Electron transfer between guanosine radicals and amino acids in aqueous solution. II. Reduction of guanosine radicals by tryptophan / O. B. Morozova, A. S. Kiryutin, A. V. Yurkovskaya // *Journal of Physical Chemistry B*. – 2008. – Vol. 112, № 9. – P. 2747-2754.
30. **Morozova, O. B.** Reduction of Guanosyl Radical by Cysteine and Cysteine-Glycine Studied by Time-Resolved CIDNP / O. B. Morozova, R. Kaptein, A. V. Yurkovskaya // *Journal of Physical Chemistry B*. – 2012. – Vol. 116, № 28. – P. 8058-8063.
31. **Nguyen, T. X.** Kinetics of the Oxidation of Thymine and Thymidine by Triplet 2,2'-Dipyridyl in Aqueous Solutions at Different pH Values / T. X. Nguyen, G. Grampp, A. V. Yurkovskaya, N. Lukzen // *Journal of Physical Chemistry A*. – 2013. – Vol. 117, № 33. – P. 7655-7660.
32. **Kaptein, R.** Structural information from photo-CIDNP in proteins // *NMR Spectroscopy in Molecular Biology*. – Springer, Dordrecht, 1978. – P. 211-229.
33. **Morozova, O. B.** Time resolved CIDNP study of electron transfer reactions in proteins and model compounds / O. B. Morozova [et al.] // *Molecular Physics*. – 2002. – Vol. 100, № 8. – P. 1187-1195.
34. **Mok, K. H.** Photo-CIDNP NMR methods for studying protein folding / K. H. Mok, P. J. Hore // *Methods*. – 2004. – Vol. 34, № 1. – P. 75-87.
35. **Prakash, S.** Magnetic Field Dependence of Photo-CIDNP MAS NMR on Photosynthetic Reaction Centers of *Rhodobacter sphaeroides* WT / S. Prakash [et al.] // *Journal of the American Chemical Society*. – 2005. – Vol. 127, № 41. – P. 14290-14298.
36. **McCord, E. F.** Chemically induced dynamic nuclear polarization studies of guanosine in nucleotides, dinucleotides, and oligonucleotides / E. F. McCord [et al.] // *Biochemistry*. – 1984. – Vol. 23, № 9. – P. 1926-34.
37. **McCord, E. F.** Chemically induced dynamic nuclear polarization studies of yeast tRNAPhe / E. F. McCord, K. M. Morden, I. Tinoco, Jr., S. G. Boxer // *Biochemistry*. – 1984. – Vol. 23, № 9. – P. 1935-9.
38. **Katahira, M.** Photochemically induced dynamic nuclear polarization studies of oligonucleotide duplexes / M. Katahira [et al.] // *Journal of the American Chemical Society*. – 1991. – Vol. 113, № 23. – P. 8647-51.
39. **Katahira, M.** NMR studies of G:A mismatches in oligodeoxyribonucleotide duplexes modeled after ribozymes / M. Katahira [et al.] // *Nucleic Acids Research*. – 1993. – Vol. 21, № 23. – P. 5418-24.
40. **Ivanov, K. L.** Transfer of CIDNP among coupled spins at low magnetic field / K. L. Ivanov [et al.] // *Applied Magnetic Resonance*. – 2006. – Vol. 30, № 3-4. – P. 513-534.
41. **Kiryutin, A.** High-resolution study of nuclear magnetic relaxation dispersion of purine nucleotides: Effects of spin-spin coupling / A. Kiryutin, K. Ivanov, A. Yurkovskaya,

- H.-M. Vieth // Solid State Nuclear Magnetic Resonance. – 2008. – Vol. 34, № 1-2. – P. 142-149.
42. **Ivanov, K.** High resolution NMR study of T_1 magnetic relaxation dispersion. I. Theoretical considerations of relaxation of scalar coupled spins at arbitrary magnetic field / K. Ivanov, A. Yurkovskaya, H.-M. Vieth // Journal of Chemical Physics. – 2008. – Vol. 129, № 23. – P. 234513.
43. **Pravdivtsev, A. N.** Exploiting level anti-crossings for efficient and selective transfer of hyperpolarization in coupled nuclear spin systems / A. N. Pravdivtsev [et al.] // Physical Chemistry Chemical Physics –2013. – Vol. 15, № 35. – P. 14660-9.
44. **Messiah, A.** Quantum Mechanics. / A. Messiah. – North-Holland, Amsterdam: Elsevier, 1962. – 1152 p. – ISBN 9780486791661
45. **Carravetta, M.** Long-Lived Nuclear Spin States in High-Field Solution NMR / M. Carravetta, M. H. Levitt // Journal of the American Chemical Society. – 2004. – Vol. 126, № 20. – P. 6228-6229.
46. **Levitt, M. H.** Singlet Nuclear Magnetic Resonance // Annual Review of Physical Chemistry / Johnson M. A., Martinez T. J. – Palo Alto: Annual Reviews, 2012. – P. 89-105.
47. **Kiryutin, A. S.** Creating Long-Lived Spin States at Variable Magnetic Field by Means of Photochemically Induced Dynamic Nuclear Polarization / A. S. Kiryutin [et al.] // Journal of Physical Chemistry Letters. – 2012. – Vol. 3, № 13. – P. 1814-1819.
48. **Tayler, M. C. D.** Determination of Molecular Torsion Angles Using Nuclear Singlet Relaxation / M. C. D. Tayler, S. Marie, A. Ganesan, M. H. Levitt // Journal of the American Chemical Society. – 2010. – Vol. 132, № 24. – P. 8225-8227.
49. **Sheberstov, K. F.** Generating and sustaining long-lived spin states in N-15,N-15'-azobenzene / K. F. Sheberstov [et al.] // Scientific Reports. – 2019. – Vol. 9. – P.1-11.
50. **Rodin, B. A.** Constant-adiabaticity RF-pulses for generating long-lived singlet spin states in NMR / B. A. Rodin [et al.] // Journal of Chemical Physics. – 2019. – Vol. 150. – P. 064201.
51. **Sheberstov, K. F.** *cis* versus *trans*-azobenzene: Precise determination of NMR parameters and analysis of long-lived states of ^{15}N spin pairs / K. F. Sheberstov [et al.] // Applied Magnetic Resonance. – 2018. – Vol. 49, № 3. – P. 293-307.
52. **Rodin, B. A.** Using optimal control methods with constraints to generate singlet states in NMR / B. A. Rodin [et al.] // Journal of Magnetic Resonance. – 2018. – Vol. 291. – P. 14-22.
53. **Eills, J.** Singlet-Contrast Magnetic Resonance Imaging: Unlocking Hyperpolarization with Metabolism / J. Eills [et al.] // Angewandte Chemie International Edition. – 2021. – Vol. 60, № 12. – P. 6791-6798.
54. **Meier, B.** Long-Lived Nuclear Spin States in Methyl Groups and Quantum-Rotor-Induced Polarization / B. Meier [et al.] // Journal of the American Chemical Society. – 2013. – Vol. 135, № 50. – P. 18746-18749.

55. **Sheberstov, K. F.** Photochemically Induced Dynamic Nuclear Polarization of Heteronuclear Singlet Order / K. F. Sheberstov [et al.] // The Journal of Physical Chemistry Letters. – 2021. – Vol. 12, № 19. – P. 4686-4691.
56. **Carravetta, M.** Beyond the T_1 limit: singlet nuclear spin states in low magnetic fields / M. Carravetta, O. G. Johannessen, M. H. Levitt // Physical Review Letters. – 2004. – Vol. 92, № 15. – P. 153003.
57. **Carravetta, M.** Theory of long-lived nuclear spin states in solution nuclear magnetic resonance. I. Singlet states in low magnetic field / M. Carravetta, M. H. Levitt // Journal of Chemical Physics. – 2005. – Vol. 122, № 21. – P. 214505.
58. **Pileio, G.** Storage of nuclear magnetization as long-lived singlet order in low magnetic field / G. Pileio, M. Carravetta, M. H. Levitt // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. – 2010. – Vol. 107, № 40. – P. 17135-17139.
59. **Vinogradov, E.** Long-lived states in solution NMR: Selection rules for intramolecular dipolar relaxation in low magnetic fields / E. Vinogradov, A. K. Grant // Journal of Magnetic Resonance. – 2007. – Vol. 188, № 1. – P. 176-182.
60. **Grant, A. K.** Long-lived states in solution NMR: Theoretical examples in three- and four-spin systems / A. K. Grant, E. Vinogradov // Journal of Magnetic Resonance. – 2008. – Vol. 193. – P. 177-190.
61. **Karabanov, A. A.** Symmetries of the master equation and long-lived states of nuclear spins / A. A. Karabanov, C. Bretschneider, W. Köckenberger // Journal of Chemical Physics. – 2009. – Vol. 131, № 20. – P. 204105.
62. **Ahuja, P.** Long-lived States in Multiple-Spin Systems / P. Ahuja, R. Sarkar, P. R. Vasos, G. Bodenhausen // ChemPhysChem. – 2009. – Vol. 10, № 13. – P. 2217-2220.
63. **Ahuja, P.** Proton hyperpolarisation preserved in long-lived states / P. Ahuja [et al.] // Chemical Communications. – 2010. – Vol. 46, № 43. – P. 8192-8194.
64. **Ahuja, P.** Molecular properties determined from the relaxation of long-lived spin states / P. Ahuja, R. Sarkar, P. R. Vasos, G. Bodenhausen // Journal of Chemical Physics. – 2007. – Vol. 127, № 13. – P. 134112.
65. **Bornet, A.** Long-Lived States to Monitor Protein Unfolding by Proton NMR / A. Bornet [et al.] // ChemPhysChem. – 2011. – Vol. 12, № 15. – P. 2729-2734.
66. **Sarkar, R.** Singlet-state exchange NMR spectroscopy for the study of very slow dynamic processes / R. Sarkar, P. R. Vasos, G. Bodenhausen // Journal of the American Chemical Society. – 2007. – Vol. 129, № 2. – P. 328-334.
67. **Sarkar, R.** Measurement of Slow Diffusion Coefficients of Molecules with Arbitrary Scalar Couplings via Long-Lived Spin States / R. Sarkar, P. Ahuja, P. R. Vasos, G. Bodenhausen // ChemPhysChem. – 2008. – Vol. 9, № 16. – P. 2414-2419.
68. **Theis, T.** Composite and shaped pulses for efficient and robust pumping of disconnected eigenstates in magnetic resonance / T. Theis, Y. Feng, T.-I. Wu, W. S. Warren // The Journal of Chemical Physics. – 2014. – Vol. 140, № 1. – P. 014201.

69. **Feng, Y.** Long-lived polarization protected by symmetry / Y. Feng [et al.] // The Journal of Chemical Physics. – 2014. – Vol. 141, № 13. – P. 134307.
70. **Claytor, K.** Accessing long-lived disconnected spin-1/2 eigenstates through spins > 1/2 / K. Claytor [et al.] // Journal of the American Chemical Society. – 2014. – Vol. 136, № 43. – P. 15118-15121.
71. **Feng, Y.** Accessing long-lived nuclear singlet states between chemically equivalent spins without breaking symmetry / Y. Feng, R. M. Davis, W. S. Warren // Nature Physics. – 2012. – Vol. 8, № 11. – P. 831-837.
72. **Stevanato, G.** Long-lived nuclear spin states far from magnetic equivalence / G. Stevanato [et al.] // Physical Chemistry Chemical Physics. – 2015. – Vol. 17, № 8. – P. 5913-5922.
73. **Emondts, M.** Long-lived heteronuclear spin-singlet states in liquids at a zero magnetic field / M. Emondts [et al.] // Physical Review Letters. – 2014. – Vol. 112, № 7. – P. 077601.
74. **Zhukov, I. V.** Assessment of heteronuclear long-lived states at ultralow magnetic fields / I. V. Zhukov, A. S. Kiryutin, A. V. Yurkovskaya, K. L. Ivanov // Physical Chemistry Chemical Physics. – 2019. – Vol. 21, № 33. – P. 18188-18194.
75. **Zhukov, I. V.** Field-cycling NMR experiments in ultra-wide magnetic field range: relaxation and coherent polarization transfer / I. V. Zhukov [et al.] // Physical Chemistry Chemical Physics. – 2018. – Vol. 20, № 18. – P. 12396-12405.
76. **Tayler, M. C. D.** NMR relaxation in porous materials at zero and ultralow magnetic fields / M. C. D. Tayler, J. Ward-Williams, L. F. Gladden // Journal of Magnetic Resonance. – 2018. – Vol. 297. – P. 1-8.
77. **Tanner, C. P.** Selective hyperpolarization of heteronuclear singlet states via pulsed microtesla SABRE / C. P. Tanner [et al.] // The Journal of Chemical Physics. – 2019. – Vol. 151, № 4. – P. 044201.
78. **Tayler, M. C. D.** Invited Review Article: Instrumentation for nuclear magnetic resonance in zero and ultralow magnetic field / M. C. D. Tayler [et al.] // Review of Scientific Instruments. – 2017. – Vol. 88, № 9. – P. 091101.
79. **Ledbetter, M. P.** Zero-field remote detection of NMR with a microfabricated atomic magnetometer / M. P. Ledbetter [et al.] // Proceedings of the National Academy of Sciences. – 2008. – Vol. 105, № 7. – P. 2286-2290.
80. **Blanchard, J. W.** Zero- to Ultralow-field NMR / J. W. Blanchard, D. Budker // eMagRes. – 2016. – Vol. 5, № 3. – P. 1395-1409.
81. **Bodenstedt, S.** Fast-field-cycling ultralow-field nuclear magnetic relaxation dispersion / S. Bodenstedt, M. W. Mitchell, M. C. D. Tayler // Nature Communications. – 2021. – Vol. 12, № 1. – P. 1-8.
82. **Wilzewski, A.** A method for measurement of spin-spin couplings with sub-mHz precision using zero-to ultralow-field nuclear magnetic resonance / A. Wilzewski, S.

- Afach, J. W. Blanchard, D. Budker // *Journal of Magnetic Resonance*. – 2017. – Vol. 284. – P. 66-72.
83. **Appelt, S.** Paths from weak to strong coupling in NMR / S. Appelt [et al.] // *Physical Review A*. – 2010. – Vol. 81, № 2. – P. 023420.
84. **Burueva, D. B.** Chemical Reaction Monitoring using Zero-Field Nuclear Magnetic Resonance Enables Study of Heterogeneous Samples in Metal Containers / D. B. Burueva [et al.] // *Angewandte Chemie-International Edition*. – 2020. – Vol. 59, № 39. – P. 17026-17032.
85. **Fessenden, R. W.** Electron spin resonance studies of transient alkyl radicals / R. W. Fessenden, R. H. Schuler // *Journal of Chemical Physics*. – 1963. – Vol. 39, № 9. – P. 2147-95.
86. **Smaller, B.** Electron paramagnetic resonance studies of transient free radicals produced by pulse radiolysis / B. Smaller, J. Remko, E. Avery // *The Journal of Chemical Physics*. – 1968. – Vol. 48, № 11. – P. 5174-5181.
87. **Closs, G. L.** Mechanism explaining nuclear spin polarizations in radical combination reactions / G. L. Closs // *Journal of the American Chemical Society*. – 1969. – Vol. 91, № 16. – P. 4552.
88. **Kaptein, R.** Chemically induced dynamic nuclear polarization. II. Relation with anomalous ESR spectra / R. Kaptein, L. J. Oosterhoff // *Chemical Physics Letters*. – 1969. – Vol. 4, № 4. – P. 195-197.
89. **Бучаченко, А. Л.** Химическая поляризация электронов и ядер. / Бучаченко, А. Л. – Москва: Издательство "Наука", 1974. – 246 с.
90. **Adrian, F. J.** Role of diffusion-controlled reactions in chemically induced nuclear spin polarization / F. J. Adrian // *Journal of Chemical Physics*. – 1970. – Vol. 53, № 8. – P. 3374-5.
91. **Yurkovskaya, A. V.** The influence of scavenging on CIDNP field dependences in biradicals during the photolysis of large-ring cycloalkanones / A. V. Yurkovskaya [et al.] // *Chemical Physics*. – 1995. – Vol. 197, № 2. – P. 157-66.
92. **Morozova, O. B.** ^1H and ^{13}C Nuclear Polarization in Consecutive Biradicals during the Photolysis of 2,2,12,12-Tetramethylcyclododecanone / O. B. Morozova, A. V. Yurkovskaya, Y. P. Tsentalovich, H.-M. Vieth // *Journal of Physical Chemistry A*. – 1997. – Vol. 101, № 4. – P. 399-406.
93. **Morozova, O. B.** Consecutive biradicals during the photolysis of 2,12-dihydroxy-2,12-dimethylcyclododecanone: low- and high-field chemically induced dynamic nuclear polarizations (CIDNP) study / O. B. Morozova, Y. P. Tsentalovich, A. V. Yurkovskaya, R. Z. Sagdeev // *Journal of Physical Chemistry A*. – 1998. – Vol. 102, № 20. – P. 3492-3497.
94. **Kaptein, R.** Chemically Induced Dynamic Nuclear Polarization; Universiteit Leiden. – Leiden, 1971.

95. **Adrian, F. J.** Contribution of $S_0 \leftrightarrow T_1$ intersystem crossing in radical pairs to chemically induced nuclear and electron spin polarizations / F. J. Adrian // *Chemical Physics Letters*. – 1971. – Vol. 10, № 1. – P. 70-4.
96. **de Kanter, F. J. J.** Magnetic field dependent ^{13}C and ^1H CIDNP from biradicals. The role of the hyperfine coupling constant / F. J. J. d. Kanter, R. Z. Sagdeev, R. Kaptein // *Chemical Physics Letters*. – 1978. – Vol. 58, № 3. – P. 334-339.
97. **Yurkovskaya, A. V.** The field dependence of CIDNP in gas-phase reactions of biradicals / A. V. Yurkovskaya [et al.] // *Chemical Physics*. – 1987. – Vol. 112, № 2. – P. 259-64.
98. **de Kanter, F. J. J.** Biradical CIDNP and the dynamics of polymethylene chains / F. J. J. de Kanter, J. A. den Hollander, A. H. Huizer, R. Kaptein // *Molecular Physics*. – 1977. – Vol. 34, № 3. – P. 857-874.
99. **Lukzen, N. N.** The Quantum Dynamical Basis of a Classical Kinetic Scheme Describing Coherent and Incoherent Regimes of Radical Pair Recombination / N. N. Lukzen, J. H. Klein, C. Lambert, U. E. Steiner // *Zeitschrift Fur Physikalische Chemie-International*. – 2017. – Vol. 231, № 2. – P. 197-223.
100. **Schulten, K.** Semiclassical description of electron spin motion in radicals including the effect of electron hopping / K. Schulten, P. G. Wolynes // *Journal of Chemical Physics*. – 1978. – Vol. 68, № 7. – P. 3292-7.
101. **Osintsev, A.** Calculation of SNP effects in weak magnetic fields / A. Osintsev, P. Purtov, K. Salikhov // *Chemical Physics*. – 1993. – Vol. 174, № 2. – P. 237-245.
102. **Fedin, M. V.** Spin relaxation of radicals in low and zero magnetic field / M. V. Fedin, P. A. Purtov, E. G. Bagryanskaya // *Journal of Chemical Physics*. – 2003. – Vol. 118, № 1. – P. 192-201.
103. **Kuprov, I.** Spin Relaxation Effects in Photochemically Induced Dynamic Nuclear Polarization Spectroscopy of Nuclei with Strongly Anisotropic Hyperfine Couplings / I. Kuprov, T. D. Craggs, S. E. Jackson, P. J. Hore // *Journal of the American Chemical Society*. – 2007. – Vol. 129, № 29. – P. 9004-9013.
104. **Redfield, A. G.** The theory of relaxation processes / A. G. Redfield // *Advances in Magnetic Resonance*. – 1966. – Vol. 1. – P. 1-32.
105. **Haberkorn, R.** Density matrix description of spin-selective radical pair reactions / R. Haberkorn // *Molecular Physics*. – 1976. – Vol. 32, № 5. – P. 1491-1493.
106. **Kominis, I. K.** Quantum Zeno effect explains magnetic-sensitive radical-ion-pair reactions / I. K. Kominis // *Physical Review E*. – 2009. – Vol. 80, № 5. – P. 056115.
107. **Tsampourakis, K.** Quantum trajectory tests of radical-pair quantum dynamics in CIDNP measurements of photosynthetic reaction centers / K. Tsampourakis, I. K. Kominis // *Chemical Physics Letters*. – 2015. – Vol. 640. – P. 40-45.
108. Description of ISOGRO sample: [сайт]. – Merck KGaA. – URL: <https://www.sigmaaldrich.com/RU/ru/product/aldrich/606839?context=product> (дата обращения: 23.08.2021). – Текст : электронный.

109. **Kiryutin, A. S.** Chapter 23 Singlet Order in Heteronuclear Spin Systems // Long-lived Nuclear Spin Order: Theory and Applications. – The Royal Society of Chemistry, 2020. – P. 418-433.
110. iRelax program / разработчик МТЦ СО РАН. – Новосибирск: МТЦ СО РАН, 2017. – Электронная программа : электронная. – URL: <http://www.tomo.nsc.ru/en/nmr/iRelax/> (дата обращения: 23.08. 2021).
111. **Kowalewski, J.** Nuclear Spin Relaxation in Liquids: Theory, Experiments, and Applications / J. Kowalewski, L. Mäler //CRC Press, Taylor & Francis Group, Boca Raton, Florida, 2006. – 426 p.
112. **Dumez, J. N.** Theory of long-lived nuclear spin states in methyl groups and quantum-rotor induced polarisation / J. N. Dumez [et al.] // Journal of Chemical Physics. – 2015. – Vol. 142, № 4. – P. 044506.
113. **Zhukov, I. V.** Correlation of high-field and zero- to ultralow-field NMR properties using 2D spectroscopy / I. V. Zhukov [et al.] // The Journal of Chemical Physics. – 2021. – Vol. 154, № 14. – P. 144201.
114. **Put, P.** Zero-to ultralow-field NMR spectroscopy of small biomolecules / P. Put [et al.] // Analytical Chemistry. – 2021. – Vol. 93, № 6. – P. 3226-3232.
115. **Sjolander, T. F.** Two-dimensional single- and multiple-quantum correlation spectroscopy in zero-field nuclear magnetic resonance / T. F. Sjolander, J. W. Blanchard, D. Budker, A. Pines // Journal of Magnetic Resonance. – 2020. – Vol. 318. – P. 106781.
116. **Bax, A.** Investigation of complex networks of spin-spin coupling by two-dimensional NMR / A. Bax, R. Freeman // Journal of Magnetic Resonance (1969). – 1981. – Vol. 44, № 3. – P. 542-561.
117. **Bodenhausen, G.** Natural Abundance N-15 NMR by Enhanced Heteronuclear Spectroscopy / G. Bodenhausen, D. J. Ruben // Chemical Physics Letters. – 1980. – Vol. 69, № 1. – P. 185-189.
118. **Bax, A.** Proton and carbon-13 assignments from sensitivity-enhanced detection of heteronuclear multiple-bond connectivity by 2D multiple quantum NMR / A. Bax, M. F. Summers // Journal of the American Chemical Society. – 1986. – Vol. 108, № 8. – P. 2093-2094.
119. **Kumar, A.** A two-dimensional nuclear Overhauser enhancement (2D NOE) experiment for the elucidation of complete proton-proton cross-relaxation networks in biological macromolecules / A. Kumar, R. R. Ernst, K. Wüthrich // Biochemical and Biophysical Research Communications. – 1980. – Vol. 95, № 1. – P. 1-6.
120. **Braunschweiler, L.** Coherence Transfer by Isotropic Mixing - Application to Proton Correlation Spectroscopy / L. Braunschweiler, R. R. Ernst // Journal of Magnetic Resonance. – 1983. – Vol. 53, № 3. – P. 521-528.
121. **Zhukov, I. V.** Total Correlation Spectroscopy across All NMR-Active Nuclei by Mixing at Zero Field / I. V. Zhukov [et al.] // Journal of Physical Chemistry Letters. – 2020. – Vol. 11, № 17. – P. 7291-7296.

122. **Ivanov, K. L.** Coherent transfer of hyperpolarization in coupled spin systems at variable magnetic field / K. L. Ivanov, A. V. Yurkovskaya, H.-M. Vieth // Journal of Chemical Physics. – 2008. – Vol. 128, № 15. – P. 154701.
123. **Zhu, G.** Improved linear prediction for truncated signals of known phase / G. Zhu, A. Bax // Journal of Magnetic Resonance (1969). – 1990. – Vol. 90, № 2. – P. 405-410.
124. **Wüthrich, K.** NMR with proteins and nucleic acids / Wüthrich, K. // Wiley-Interscience, 1986 – ISBN 9780471828938
125. **Kiryutin, A. S.** Sequential assignment of NMR spectra of peptides at natural isotopic abundance with zero- and ultra-low-field total correlation spectroscopy (ZULF-TOCSY) / A. S. Kiryutin [et al.] // Physical Chemistry Chemical Physics. – 2021. – Vol. 23, № 16. – P. 9715-9720.
126. **Hore, P. J.** The radical-pair mechanism of magnetoreception / P. J. Hore, H. Mouritsen // Annual review of biophysics. – 2016. – Vol. 45. – P. 299-344.
127. **Stob, S.** Intramolecular electron transfer in flavin adenine dinucleotide. Photochemically induced dynamic nuclear polarization study at high and low magnetic fields / S. Stob, J. Kemmink, R. Kaptein // Journal of the American Chemical Society. – 1989. – Vol. 111, № 18. – P. 7036-42.
128. **Kieninger, M.** Calculation of the Geometries and Infrared Spectra of the Stacked Cofactor Flavin Adenine Dinucleotide (FAD) as the Prerequisite for Studies of Light-Triggered Proton and Electron Transfer / M. Kieninger, O. N. Ventura, T. Kottke // Biomolecules. – 2020. – Vol. 10, № 4. – P. 573.
129. **Koptyug, I. V.** Calculation of Stimulated Nuclear-Polarization in Short-Lived Biradicals and Comparison with Experiment / I. V. Koptyug [et al.] // Chemical Physics. – 1992. – Vol. 162, № 1. – P. 165-176.
130. **Kaptein, R.** Simple rules for chemically induced dynamic nuclear polarization / R. Kaptein // Journal of the Chemical Society D: Chemical Communications. – № 14. – P. 732-733.
131. **Schäfer, J.** Synthesis and Photophysical Investigation of Donor-Acceptor-Substituted *meta*- and *para*-Benzene Derivatives; Julius-Maximilians-Universität Würzburg. – Würzburg, 2017. – 322 p.
132. **Schäfer, J.** Fine tuning of electron transfer and spin chemistry parameters in triarylamine-bridge-naphthalene diimide dyads by bridge substituents / J. Schäfer [et al.] // Physical Chemistry Chemical Physics. – 2018. – Vol. 20, № 42. – P. 27093-27104.
133. **Morozova, O. B.** Time-resolved CIDNP: an NMR way to determine the EPR parameters of elusive radicals / O. B. Morozova [et al.] // Physical Chemistry Chemical Physics. – 2011. – Vol. 13, № 14. – P. 6619-6627.
134. **Wegner, M.** Field dependent CIDNP from photochemically generated radical ion pairs in rigid bichromophoric systems / M. Wegner [et al.] // Chemical Physics. – 2001. – Vol. 264, № 3. – P. 341-353.

135. **Kaiser, C.** Long-Lived Singlet and Triplet Charge Separated States in Small Cyclophane-Bridged Triarylamine–Naphthalene Diimide Dyads / C. Kaiser, A. Schmiedel, M. Holzapfel, C. Lambert // *The Journal of Physical Chemistry C.* – 2012. – Vol. 116, № 29. – P. 15265-15280.

136. **McConnell, H. M.** Theory of Isotropic Hyperfine Interactions in π -Electron Radicals / H. M. McConnell, D. B. Chesnut // *The Journal of Chemical Physics.* – 1958. – Vol. 28, № 1. – P. 107-117.

ПРИЛОЖЕНИЕ 1

Результаты моделирования полевых зависимостей ^{13}C ХПЯ диад DCNA, DOMeA и DCIA. Общие для всех положений атома углерода-13 в диаде параметры моделирования указаны в табл.3, амплитуды полуклассического поля указаны в табл.4, зависящие от положения углерода-13 параметры СТВ – в табл.5.

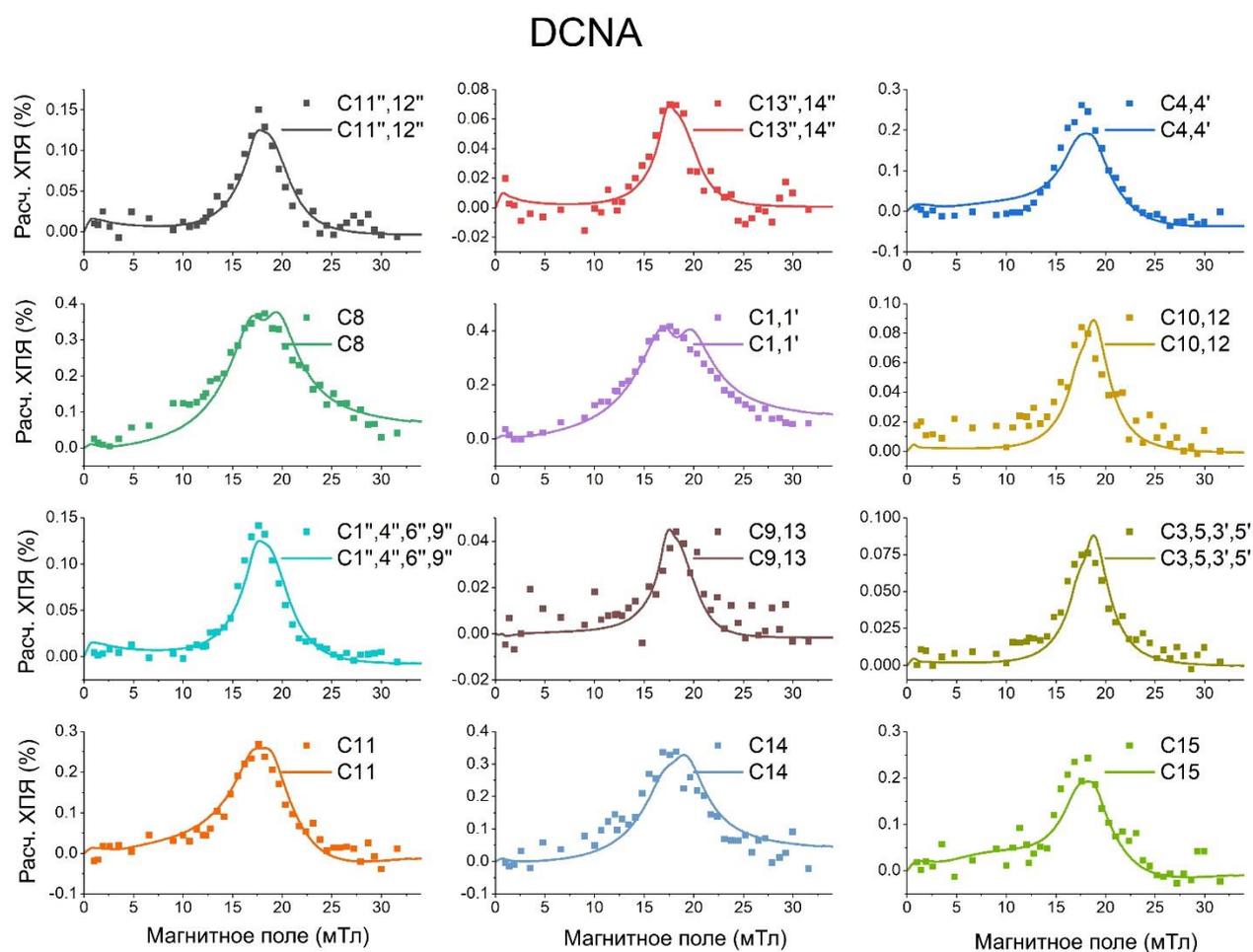


Рисунок П1. Полевые зависимости ^{13}C ХПЯ диады DCNA. Цветными линиями показан результат сайт-специфичного глобального моделирования согласно алгоритму, описанному в разделе 3.5.4.

DOMeA

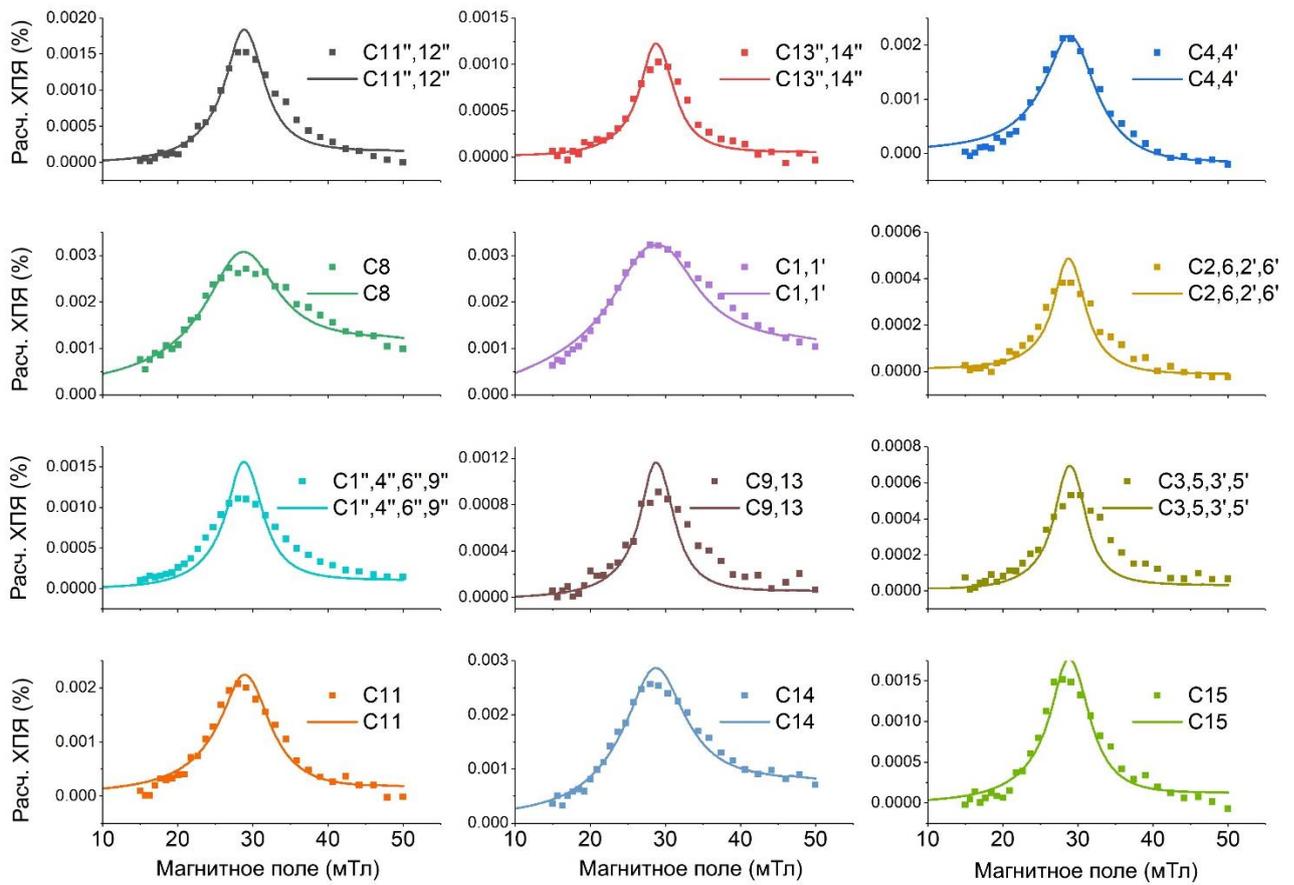


Рисунок П2. Полевые зависимости ^{13}C ХПЯ диады DOMeA. Цветными линиями показан результат сайт-специфичного глобального моделирования согласно алгоритму, описанному в разделе 3.5.4.

DCIA

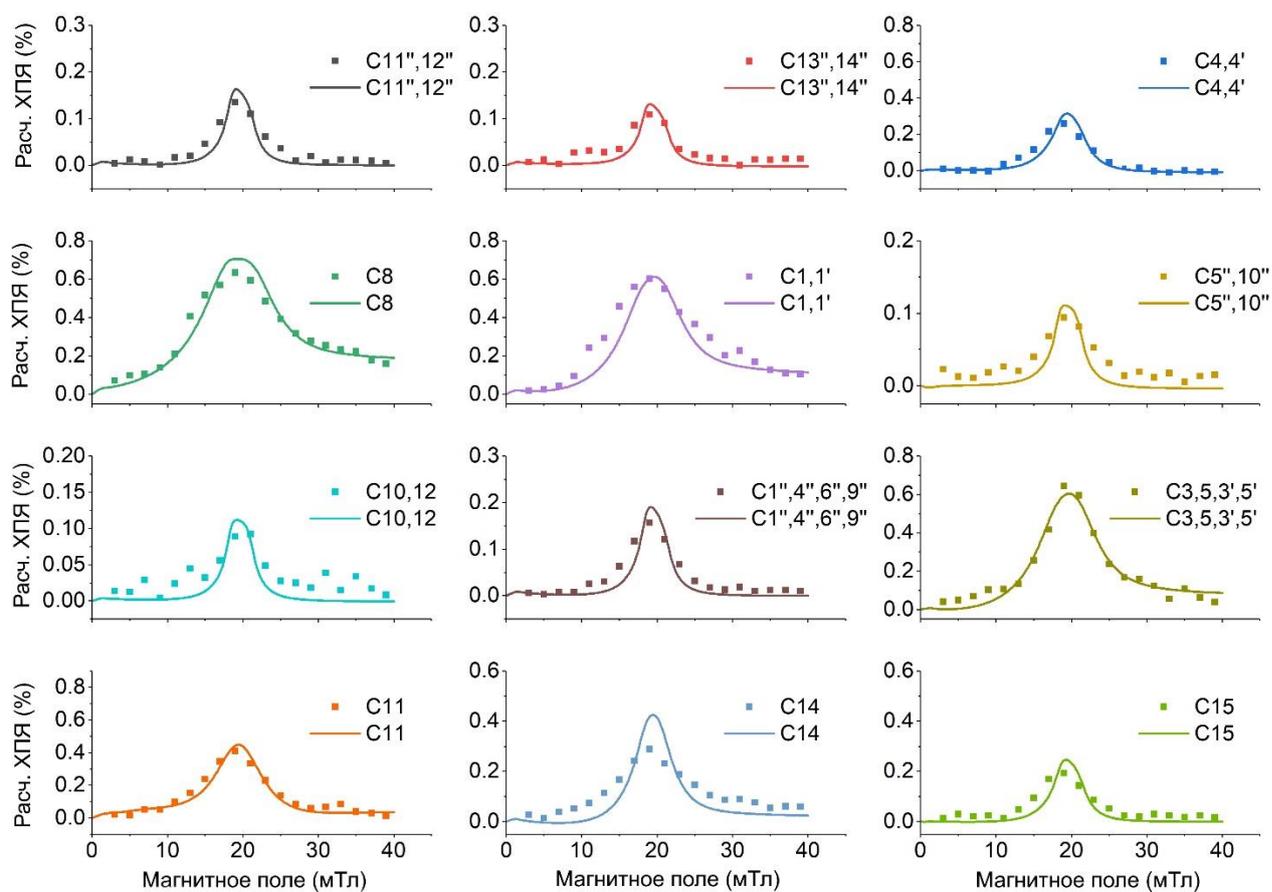


Рисунок ПЗ. Полевые зависимости ^{13}C ХПЯ диады DCIA. Цветными линиями показан результат сайт-специфичного глобального моделирования согласно алгоритму, описанному в разделе 3.5.4.